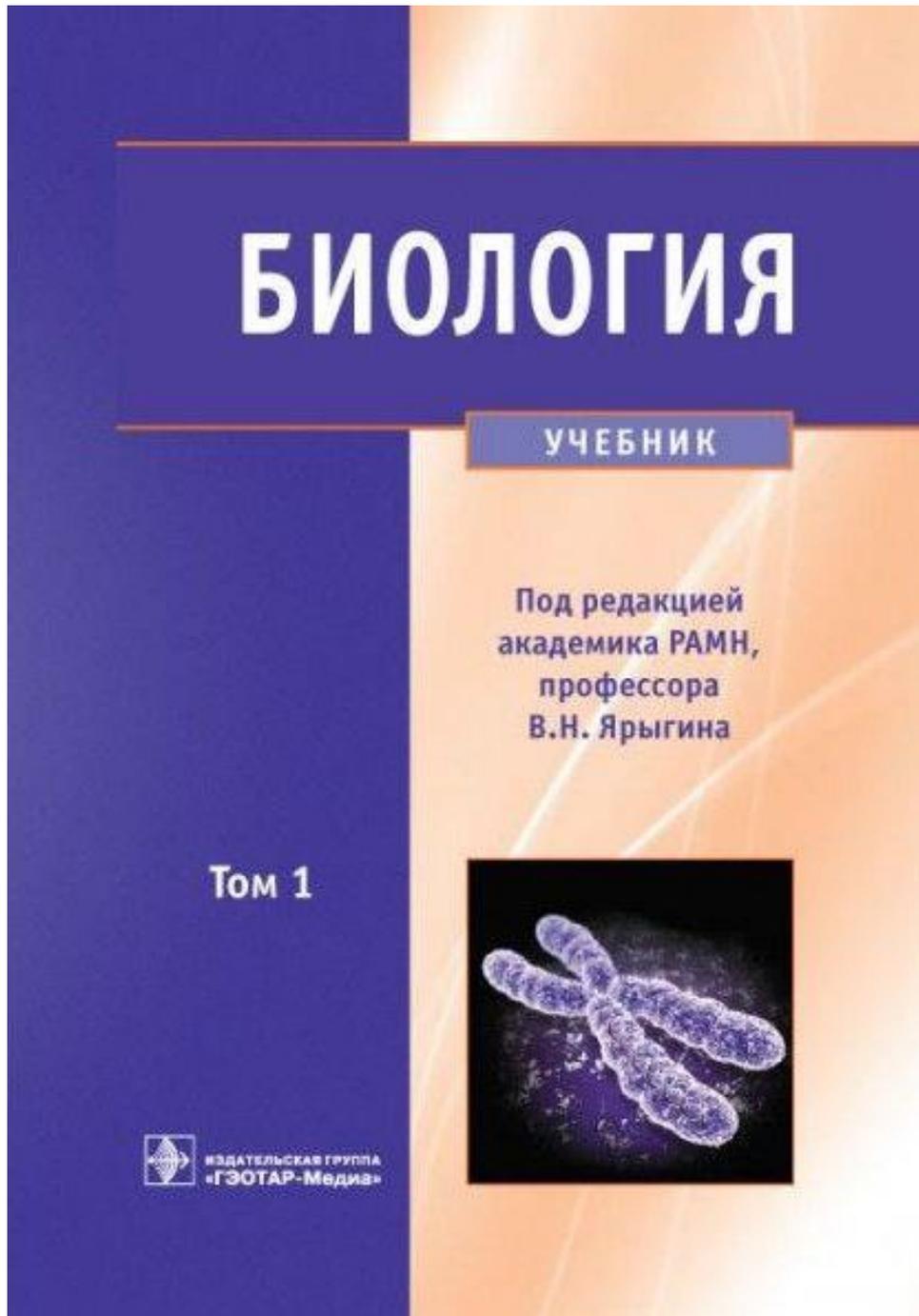


БИОЛОГИЯ. ТОМ 1.



Аннотация

В учебнике изложен курс биологии для студентов медицинских вузов. Охарактеризованы сверхновые биологические (биомедицинские) дисциплины - геномика, протеомика, метаболомика, биология живых систем, освещены основные свойства жизни, приведены основные гипотезы происхождения жизни. Биологические основы жизнедеятельности и развития живых форм, включая человека, рассмотрены в соответствии со всеобщими уровнями организации жизни. Определены принципиальные события, обуславливающие эволюционный процесс на молекулярно-генетическом, клеточном, онтогенетическом (1-й том), популяционно-видовом и биогеоценотическом (2-й том) уровнях организации жизни. Изложены особенности проявления общебиологических закономерностей в индивидуальном развитии и популяциях людей, их значимость для медицинской практики.

Особое внимание уделено биосоциальной сущности человека и его роли во взаимоотношениях с природой, а также вопросам общей экологии и экологии человека. В области частной экологии детально обсуждены вопросы медицинской паразитологии.

Рассмотрены современные представления об антропогенезе, человеческих расах и расогенезе, об адаптивных (экологических) типах людей.

Учебник предназначен студентам медицинских вузов.

Библиография

Биология. Т. 1. / под ред. Ярыгина В.Н. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2020.

Содержание

Раздел I. ЖИЗНЬ КАК ЯВЛЕНИЕ МАТЕРИАЛЬНОГО МИРА

Глава 1. Введение в биологию.....8

Раздел II. КЛЕТОЧНЫЙ УРОВЕНЬ ОРГАНИЗАЦИИ ЖИЗНИ

Глава 2. Клеточный уровень организации жизни - основа жизнедеятельности и развития живых форм всех типов структурно-функциональной организации. Биология клетки.....57

Глава 3. Существование клетки во времени.....150

Раздел III. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ УРОВЕНЬ ОРГАНИЗАЦИИ ЖИЗНИ

Глава 4. Молекулярно-генетический уровень организации жизни - реализация свойств наследственности и изменчивости. Структурно-функциональная организация клеточного аппарата.....169

Глава 5. Молекулярно-генетические и клеточные механизмы обеспечения свойств наследственности и изменчивости у людей как проявление биологического наследства человека. Введение в генетику человека.....248

Раздел IV. ОРГАНИЗМЕННЫЙ ИЛИ ОНТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ УРОВЕНЬ ОРГАНИЗАЦИИ ЖИЗНИ

Глава 6. Размножение в живой природе.....286

Глава 7. Периодизация онтогенеза.....305

Глава 8. Закономерности индивидуального развития организмов.....361

Предисловие

Издание подготовлено в соответствии с программой по биологии для студентов медицинских высших учебных заведений РФ (2001 г.), а также оригинальной программой, соответствующей требованиям ГОС нового поколения (2011 г.). В процессе работы авторский коллектив учитывал особенности курса. Во-первых, по объективным причинам - это конгломерат биологических дисциплин. Во-вторых, ему предшествует изучение основ биологии в общеобразовательной средней школе. В-третьих, он включает темы, с которыми в последующем студенты встречаются при изучении других дисциплин. Эти особенности порождают задачи - отобрать адекватный в содержательном и количественном отношении материал, избежать повторений, обеспечить неформальную преемственность и целостное восприятие предмета.

С целью решения названных задач авторы использовали два подхода. С одной стороны, **отбор вопросов и иллюстративного материала** проводили с учетом **багажа классической и достижений современной и новейшей биологии**. При этом осознавалось, что доказательная характеристика биологии человека невозможна без привлечения материалов, раскрывающих суть базисных макромолекулярных, клеточных, онтогенетических, популяционных, экосистем-ных механизмов жизнеобеспечения. С другой стороны, чтобы доступно и в полном объеме представить корни и содержание биологической составляющей индивидуального развития и жизнедеятельности человека, авторы ориентировались на **систему уровней организации жизни**, вытекающих из «инфраструктуры» эволюционного процесса (см. п. 1.6). Рассматривая от уровня к уровню проявления жизни, можно быть уверенным в том, что все принципиальные биологические факторы существования живых форм окажутся в поле внимания учащихся. Обращение к системе эволюционно обусловленных уровней организации жизни помогает решить еще одну задачу - наглядно и всесторонне продемонстрировать специфику проявления биологических явлений среди людей.

Свое место в издании занимают общие разделы науки о жизни - вопросы ее специфики, характерных свойств, возникновения и исторического развития - и о человеке как о своеобразном продукте биологической эволюции, неотъемлемом и активном элементе биосферы. Этот материал необходим, в том числе для формирования мировоззрения учащихся.

Человек отличается от других животных тем, что его индивидуальное развитие и жизнедеятельность определяются тремя началами - **биологическим, социальным и духовным**. Приобретение социального статуса не противопоставляет людей живой природе планеты. Так как человек является результатом эволюции, он разделяет с остальным животным населением Земли основные биологические факторы жизнеобеспечения. Указанные факторы составляют его **биологическое «наследство»**. Среди них такие, которые делают человека, появляющегося на свет, способным к освоению, в дополнение к биоинформационной генетической программе (ДНК, в фенотипическом выражении - своеобразная реализация инстинктов), также социальной (культурной) информационной программы и, следовательно, к превращению в **мыслящее, трудящееся и общественное** существо. Духовная составляющая в человеке отражает его принадлежность к определенной духовной нише (этносу, национальности, религии, нации) и присутствует в виде осознанного собственного «Я», оформленной системы жизненных ценностей. Полнота здоровья человека зависит от состояния всех трех начал.

Интересы медицины в сфере биологии группируются по трем направлениям: **антропобиология** или **биология человека, медицинская биология** и **биомедицина**. Первое аккумулирует знания по общебиологическим

закономерностям развития и жизнедеятельности человека как живого существа, воспринимаемые с учетом специфики вида *H. sapiens*. Второе рассматривает биологические предпосылки разнообразия среди людей, семей и человеческих популяций по критериям здоровья. Биомедицинское направление складывалось под влиянием опережающего развития во второй половине XX в. молекулярной и клеточной биологии, молекулярной и популяционной генетики, ряда других дисциплин. Его отличает неформальное соединение усилий представителей биологической и медицинской науки при проведении исследований в сфере фундаментальной и экспериментальной биологии, ориентированных на решение конкретных задач здравоохранения (**инновационный подход**; англ. *innovation* - введение новых продуктов, идей или технологий в практику).

Достижения фундаментальной биологии конца XX - начала XXI в. по их вкладу в понимание принципов организации и динамики живых систем удовлетворяют критериям **«научного прорыва»**. Завершенный к 2001-2003 гг. проект **«Геном человека»** - «повивальная бабка» сверхновых биологических дисциплин - демонстрирует технические возможности прочтения ДНК-текстов и, следовательно, доступа к биологической информации, составляющей основу наследственности, а также индивидуального и популяционно-группового разнообразия людей. Благодаря достижениям новейшей биологии ситуация в современной медицине такова, что уместно говорить о **смене парадигмы** (греч. *paradeigma* - пример, образец; система господствующих научных убеждений, господствующий способ научного и бытового мышления). Геномные и постгеномные технологии (см. п. 1.1) делают реальной генетическую паспортизацию населения. Последнее, открывая возможность персонификации терапевтических мероприятий, дает здравоохранению шанс на деле «лечить не болезнь, а больного». Новейшие технологии создают условия для развития профилактической медицины, в частности, оформления в ней такого направления, как **предиктивная медицина** (лат. *praedico, praedictum* - предсказывать). Задача этого направления - **клинико-физиологическое осмысление функций генома** с использованием данных **геномного и протеомного тестирования («портретирования»)** людей для выработки **персональных рекомендаций** по вопросам как сохранения и преумножения здоровья, так и оптимального его использования в различных жизненных ситуациях. Наличие геномных и протеомных «портретов» людей, в известных пределах, объективизирует выбор каждым профессии, супруга или супруги, вида спорта, местожительства, помогает рационализировать питание, отдых.

Используя современные биомедицинские технологии в практическом здравоохранении, необходимо следовать нормам **биомедицинской этики** (греч. *ethos* - обычай). Биологизация медицины в современном научно-техническом формате предусматривает появление технологий, допускающих вмешательство врача в фундаментальные биоинформационные, биоэнергетические, регуляторные, метаболические, клеточно-биологические механизмы жизнеобеспечения и развития. В целях определения норм биомедицинской этики на международном уровне работают Этический комитет Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), Международные комитеты по биоэтике при Совете Европы и ЮНЕСКО, приняты «Конвенция о правах человека и биомедицине» (1996), «Всеобщая декларация о геноме человека и о правах человека» (1997).

В России действуют Основы законодательства по охране здоровья, в которых, к сожалению, этические вопросы медицинских исследований и помощи прописаны неполно. Принят Федеральный закон о генно-инженерной деятельности, подготовлен и обсуждается проект закона «О правовых основах биоэтики и гарантиях ее обеспечения». В стадии разработки находится проект закона «О применении биомедицинских технологий в медицинской практике».

Источник KingMed.info

В реальной жизни приходится встречаться с **частными этическими понятиями**, распространяющимися на представителей одной общности людей - нация, этнос, религия, - **понятиями наднационального уровня** и **понятиями глобального характера**. Ключевые понятия глобальной (всеобщей) биомедицинской этики:

- **«автономия личности»**, понимаемая как право человека самостоятельно решать вопросы, затрагивающие его тело, психику, эмоциональную сферу;
- **«справедливость»**, подразумевающая равный доступ для каждого к имеющемуся общественному (например, национальному) ресурсу, включая отрасль здравоохранения;
- восходящее к Гиппократу **«не навреди»**;
- не только не навреди, но **«сотвори благо»**.

Наше время характеризуется возникновением банков персонифицированной генетической информации. Такая информация, в принципе, может быть использована во вред человеку. К примеру, генетическая предрасположенность к табакокурению, алкоголизму, асоциальному поведению, определенным болезням, включая психические, если об этом становится широко известно, может послужить препятствием в приеме на работу или карьерном росте, повлиять на результаты голосования в ходе выборов, обусловить повышенный размер страховых взносов.

Сравнительно недавно, когда медицина воспринималась одновременно ремеслом, наукой и искусством, задача высшего медицинского образования виделась в воспитании у врачей **клинического, профилактического и профессионально-этического образа мышления**. В наше время перехода медицины в формат науки целесообразно, чтобы клинический, профилактический и профессионально-этический образ мышления дополнялся **информационно-технократическим, экологическим, социоэкологическим, генетическим, популяционно-генетическим и онтогенетическим образом мышления**. В условиях, когда фундаментальная наука дает в руки медиков мощнейшие средства воздействия на человека, профессиональными атрибутами врача, кроме знаний и умений, должны стать высочайшая **ответственность и человеколюбие**.

В создании учебника авторский коллектив исходил из многолетнего опыта преподавания биологии на соответствующей кафедре 2 Московского государственного медицинского института - Российского государственного медицинского университета. Свой вклад внесли контакты с коллегами - преподавателями биологии из других медицинских вузов СССР и России. Позитивный момент состоит в том, что в коллективе кафедры биологии РНИМУ трудятся создатели учебников по биологии для студентов вузов, для учащихся средних общеобразовательных школ и медицинских училищ, руководства для лиц, поступающих в медицинские вузы.

Авторский коллектив выражает признательность коллегам, труды которых способствовали выходу в свет настоящего издания, руководству и сотрудникам издательства «ГЭОТАР-Медиа», чья профессиональная компетентность помогает учебнику, увидевшему свет, выполнять свою образовательную миссию.

Авторы приносят извинения ученым, взгляды которых в силу ограниченного объема издания не нашли в нем должного освещения или же представлены без соответствующих ссылок. Они выражают надежду, что перечень рекомендуемой литературы выполнит в этом отношении позитивную роль. Авторы будут благодарны за все критические замечания и пожелания.

Коллектив авторов

Список аббревиатур

- AURE - богатые аденином и урацилом элементы (англ. - *adenine/ uracil-rich elements*)
- BMP - морфогенетические белки, получаемые из костного мозга (англ. - *bone morphogenetics proteins*)
- CAM - молекулы межклеточной адгезии (англ. - *cell-adhesion molecules*) CD - клеточные маркеры, «кластеры дифференцировки» (англ. - *cluster of differentiation*)
- Cdk - циклинзависимые киназы (англ. - *cyclin dependent kinase*)
- EF-1s - факторы удлинения (англ. - *Elongation Factors*)
- EFG - фактор роста эпидермиса (англ. - *Epidermal Growth Factor*)
- eIF - эукариотический фактор инициации трансляции (англ. - *eucariotic Initiation Factor*)
- eRF - эукариотический рилизинг-фактор (англ. - *eucariotic Releasing Factor*)
- FADH₂ - флавинадениндинуклеотид
- FISH - метод флуоресцентной гибридизации *in situ* (англ. - *fluorescent in situ hybridization*)
- HGF - гепатоцитарный фактор роста (англ. - *Hepatocyte Growth Factor*) HLA - человеческие лейкоцитарные антигены (англ. - *Human Leukocyte Antigen*)
- IRE - железочувствительный элемент (англ. - *iron-responsive element*) LINE - длинные нуклеотидные повторы (англ. - *Long Interspersed Nu-cleotide Elements*)
- MHC - главный комплекс гистосовместимости (англ. - *Major Histocom-patibility Complex*)
- NADH - никотинамидадениндинуклеотид
- NGF - фактор роста нервов (англ. - *Nerve Growth Factor*)
- PCNA - (англ. - *Proliferating Cell Nuclear Antigen*)
- PDGF - тромбоцитарный фактор роста (англ. - *Platelet-Derived Growth Factor*)
- RFC - фактор репликации C (англ. - *Replication Factor C*)
- RPA - белок репликации A (англ. - *Replication Protein A*)
- SINE - короткие нуклеотидные повторы (англ. - *Short Interspersed Nu-cleotide Elements*)
- snoRNA - малые ядрышковые РНК (англ. - *small nucleolar RNA*) snRNA - малые ядерные РНК (англ. - *small nuclear RNA*) SSB - белки, стабилизирующие одноцепочечные участки ДНК (англ. - *Single Strand Binding Proteins*)
- TGF- β - трансформирующие факторы роста β
- АТФ - аденозинтрифосфат
- АФК - активные формы кислорода

Источник KingMed.info

ацетил-СоА - ацетил-кофермент(коэнзим)А

БАК - белок-активатор (англ. - *CAP - catabolite activator protein*)

Г6ФД - глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа

ДАГ - липид диацилглицерин

ДНК - дезоксирибонуклеиновая кислота

ЗПА - зона поляризующей активности

МГК - медико-генетическое консультирование

МГЭ - мигрирующие (подвижные) генетические элементы, или транс-позоны

МРТ - магнитно-резонансная томография мтДНК - митохондриальная ДНК

ОНП - однонуклеотидный генетический полиморфизм, снипс (англ. - *SNP - Single Nucleotide Polymorphisms*) ПТФ-центр - пептидилтрансферазный центр

ПЦР - полимеразная цепная реакция (англ. - *PCR - Polymerase Chain Reaction*)

рДНК - гены, на которых синтезируется рРНК

РНК - рибонуклеиновая кислота

рРНК - рибосомные РНК

УЗИ - ультразвуковое исследование

УФ - ультрафиолетовый

ФНО - фактор некроза опухолей (англ. - *TNF - Tumor Necrosis Factor*) цАМФ - циклический аденозинмонофосфат цГМФ - циклический гуанозинмонофосфат

ядДНК - ядерная ДНК

Раздел I. ЖИЗНЬ КАК ЯВЛЕНИЕ МАТЕРИАЛЬНОГО МИРА

Глава 1

ВВЕДЕНИЕ В БИОЛОГИЮ

1.1. биология - область естествознания, комплекс научных дисциплин о жизни во всех ее проявлениях

Термин «**биология**» (греч. *bios* - жизнь, *logos* - слово, учение, наука) предложен в начале XIX в. Ж.-Б. Ламарком и Г. Тревиранусом для обозначения науки о жизни как особом природном явлении. За минувшие два столетия биология проделала плодотворный путь развития. В настоящее время она представляет комплекс дисциплин. Предметом изучения одних остается **жизнь** как явление окружающего мира, других - **проявления жизни** на том или ином уровне организации или в том или ином ее сегменте, то есть все **живое** на планете **в его конкретном пространственно-временном воплощении**.

Каждая биологическая дисциплина характеризуется **предметом исследования (познания)**, преимущественно используемыми **методами научного анализа, идеями общего порядка**, оформленными в виде теорий или гипотез, и **методологическими подходами**, отражающими отношение исследователя к предмету познания (табл. 1.1).

Таблица 1.1. Процесс научного познания: предмет, методы, идеи общего порядка и методологические принципы

А. Предмет познания:					
Жизнь как явление материального мира	Закономерности структурно-функциональной организации живых систем разного уровня	Морфофункциональные характеристики представителей групп организмов (таксонов): вида, рода и ДР?	Сообщества организмов: популяции, биогеоценозы, экосистемы, включающие людей	Человек	Биотехнологические конструкции
Примеры сегментов фундаментальной и медицинской биологии, связанных с соответствующим предметом познания:					
Общая биология Системная биология Биология систем Систематика	Биология гена Биология клетки	Биология пещера Биология малярийного плазмодия Биология отряда приматов	Факторы риска разной природы	Антропобиология Медицинская биология Биомедицина	Генные конструкции Клеточный продукт
Б. Методы познания:					
Наблюдение		Эксперимент		Моделирование	
Невооруженный глаз Лупа, световой микроскоп, электронный микроскоп Методы молекулярной биологии Методы прижизненной визуализации		На животных (<i>in vivo</i>) На живых объектах вне организма (<i>in vitro</i>)		Математическое моделирование Экспериментальное моделирование (хирургическое, токсикологическое, алиментарное)	
Полевые наблюдения (в природных условиях)		Опыты, «поставленные жизнью» (генные болезни, пороки развития) Методы молекулярной биологии		Генетическое моделирование (« <i>knockout</i> », « <i>knock in</i> »)	

Окончание табл. 1.1

В. Идеи общего порядка:			
Клеточная теория	Принцип индивидуального развития	Принцип исторического развития (эволюционное учение)	Принцип экосистемы
Клетка - элементарная структурная,	Живые системы (клетка, организм, популяция, вид)	Жизнь как явление не может существовать вне процесса	Жизнь представлена сообществами организмов,

функциональная и генетическая единица жизни	организованы во времени и характеризуются определенным «жизненным циклом»	исторического развития, что при наличии приемлемых условий гарантирует ее сохранение во времени и распространение в пространстве	выполняющих в планетарных вещественно-энергетических круговоротах специфические функции
---	---	--	---

Г. Методологические принципы, отражающие отношение исследователя к предмету научного познания:

Редукционистский	Интегративный	Системный
Последовательный анализ структур и функций от высших к низшим уровням структурной организации объекта (организм → орган → ткань → клетка → субклеточные структуры → макромолекулы)	Объект есть целостность; данные о структурах и функциональных отправлениях на низших уровнях вносят ограниченный вклад в понимание того, как функционирует целое	Объект есть система, представленная совокупностью однотипных или различающихся элементов, закономерно связанных друг с другом пространственно и функционально; характеристики системы не сводимы к характеристикам элементов, из которых она построена; результат деятельности системы качественно отличен от результата деятельности отдельных элементов; специфичность результата действия системы определяется характером взаимодействия элементов

В англоязычной учебной литературе называют еще 2 методологических подхода, характерные для современной биологии, - индуктивный и дедуктивный. **Индуктивный** подход - это обобщения, вытекающие из результатов изучения «частностей». В европейской науке он стал доминирующим с XVII в., что связано с именами Ф. Бэкона и И. Ньютона, заложившими в основание сформулированных ими законов результаты конкретных опытов (см. закон всемирного тяготения - «яблоко, упавшее с яблони на голову ученого»). **Дедуктивный** подход исходит из возможности предсказать «частности», имея представления об общих характеристиках объекта познания.

К классическим биологическим дисциплинам относятся **общая и системная биология, зоология, ботаника, микология, протистология, микробиология, вирусология, морфология (анатомия, гистология, цитология - в зависимости от структурного уровня), физиология, биохимия и биофизика, этология, биология развития (эмбриология, геронтология), палеонтология, антропология, генетика, экология.**

Осознание того, что живое представлено формами, объединенными в группы (**таксоны**), представители которых различаются по степени исторического родства или же не состоят в таком родстве вовсе, дало **систематику**. Последняя относит организм к определенному виду, роду, семейству, отряду, классу, типу, порядку. С появлением новых данных положение группы живых существ в системе органического мира пересматривается. Так, использование методов **макромолекулярной систематики («молекулярных часов»)** показало, что генетическое расстояние между орангутан(г)ом и африканскими человекообразными обезьянами (шимпанзе, горилла), относимыми приматологией к одному семейству *Pongidae*, превосходит названное расстояние между последними и человеком. Поставлен вопрос о выделении орангутан(г)а в отдельное семейство.

Закономерности исторического развития жизни в виде ее отдельных форм или их природных совокупностей изучаются в рамках **эволюционного направления (эволюционной теории или учения).**

В масштабе реального времени жизнь организована в виде сменяющихся поколений организмов. Механизмы, обеспечивающие указанное явление, изучает **репродуктивная биология.**

Вторая половина XX в. отмечена успехами в познании фундаментальных механизмов жизнедеятельности. Описан в деталях поток биологической информации в живых системах, в основных чертах поняты

Источник KingMed.info

молекулярные механизмы энергетического обеспечения процессов жизнедеятельности. Исследования по названным направлениям - задача таких оформившихся во второй половине XX столетия биологических дисциплин, как **молекулярная биология** и **молекулярная генетика**, **биоинформатика**, **биоэнергетика**. Молодой дисциплиной является **клеточная биология**, возникшая на рубеже третьей и последней четвертей минувшего века как следствие развития цитоморфологии, цитохимии и цитофизиологии первой половины-середины XX в. Объединение молекулярно-генетического, клеточно-биологического, популяционно-клеточного и системного подходов породило современную **иммунологию**, предметом изучения которой являются механизмы иммунологического надзора с функцией защиты целостности и биологической индивидуальности организма, включая реакцию на выход собственных клеток из-под общеорганизменных регуляторных влияний (онкотрансформация), проникновение в него инфекционных агентов (бактерий, вирусов) и чужеродных белков (факты совместимости по группам крови *ABO*, резус и др.)

Разработки в области молекулярной биологии, генетики и клеточной биологии, ориентированные на решение практических проектов в интересах промышленности, медицины и сельского хозяйства, оформились в научно-практическое **биотехнологическое** (греч. *bios* - жизнь, *téchnē* - ремесло, искусство, мастерство) **направление - генную, клеточную, тканевую инженерию**. Биотехнологическое направление, по крайней мере, в части генной инженерии базируется на принципах природного явления - горизонтальном (латеральном) переносе генов между представителями разных систематических групп. Это явление распространено в природе, особенно в мире прокариот. В здравоохранении используется ряд лекарственных средств генно-инженерной природы, например инсулин.

Перспективы развития биотехнологического направления в обозримом будущем связывают с **нанотехнологиями**, в том числе медицинского назначения. Их основу составляют конструкции, не превосходящие по размерам десятки-сотни нанометров ($1 \text{ нм} = 10^{-9} \text{ м}$) и, следовательно, способные «работать» в качестве диагностических, терапевтических или «надзирающих» (нанороботы) агентов с отдельными клетками и внутриклеточно. **Наноподход** используется также при создании новых лекарственных средств. На рубеже XX-XXI вв. в биологии произошли события, кульминационным моментом которых стал проект «**Геном человека**». В результате его осуществления **установлены последовательности нуклеотидов** всех 25 (включая митохондриальную) молекул ДНК клеток человека. Таким образом, практически в полном объеме **прочитаны ДНК-тексты** и, следовательно, открыт доступ к содержанию генетической информации, управляющей биологической составляющей индивидуального развития и жизнедеятельности людей. Ведутся работы по **определению последовательности нуклеотидов (секвенированию; англ. *sequence* - последовательность)** в геномах других существ, включая ближайших эволюционных «родственников» людей (шимпанзе) и возбудителей паразитарных и инфекционных болезней. В итоге в новейшей биологии появилась дисциплина **геномика** (нем. *genom* - совокупность генов или, более точно, нуклеотидных последовательностей ДНК гаплоидного набора хромосом).

К носителям генетической информации в клетке, кроме нуклеиновых кислот, относятся белки или протеины (греч. *protos* - первый; простые белки являются первыми функционально значимыми продуктами активности многих генов; первооснову любой биологической функции составляют белки). Закономерности реализации генетической информации на уровне белков - предмет изучения «сверхновой» биологической дисциплины **протеомики** (протеом - совокупность белков, образуемых клетками организмов определенного вида).

Источник KingMed.info

Количество структурных (смысловых) генов, кодирующих аминокислотные последовательности белков в геноме человека, меньше числа конкретных белков, обнаруживаемых в клетках (см. здесь же, ниже). Это пробудило интерес к превращениям или процессингу (англ. *processing* - обработка, переработка; лат. *procedo* - прохожу, продвигаюсь) пре-РНК транскриптов, образующихся в результате считывания информации с ДНК. Результат - «сверхновая» биологическая дисциплина **транскриптомика** (транскриптом - набор информационных РНК, образуемых клетками организмов конкретного вида на основе соответствующего генома). Исследования в области транскриптомики и протеомики не могут осуществляться в отрыве от исследований в области геномики. Геном человека содержит 30-35 тыс. (по некоторым последним сообщениям - 20 тыс.) участков ДНК, кодирующих структуру полипептидов и некоторых видов РНК, то есть генов в понимании классической генетики. Количество белков в клетках людей уже сейчас уверенно оценивается цифрой 200-300 тыс. Ожидаемое же количество составляет по предварительным оценкам не менее 1 млн. В связи с этим протеомику следует рассматривать как элемент **функциональной геномики**. В таком случае транскриптомика служит «связующим звеном» между собственно геномикой (**структурная геномика**), поставляющей сведения о нуклеотидных последовательностях ДНК, и протеомикой, дающей представление о «полном протеомном портрете» или ассортименте белков, образуемых клеткой (организмом). В компетенцию функциональной геномики входит также получение ответов на вопросы: когда, где, при каких условиях и с какой интенсивностью в организме экспрессируются разные гены (образуются разные белки).

Необходимость представлять феномен реализации генетической информации в процессах жизнедеятельности не столько в биохимических терминах (ДНК, РНК, белки, метаболиты), но раскрывая вклад этой информации в структуру и функцию реальных биологических объектов (ресничка, жгутик, механохимическая сократительная система мышцы) привела к зарождению в современной науке о жизни направления **биология систем (*systems biology*)**, в рамках которого редуccionистский методологический принцип (см. здесь же, выше), доминировавший в биологии XX в., сменяется принципами интегративным и системным.

Исследование внутриклеточного обмена веществ (метаболизма) как существенной составляющей потоков информации, энергии и веществ проводится в рамках «сверхновой» биологической дисциплины **мета-боломики** (греч. *metabole* - перемена, превращение; метаболизм или обмен веществ - совокупность процессов биохимических превращений веществ и энергии в клетке, организме, экосистеме) или **биохимического профилирования**. Метаболомика изучает химические взаимодействия, в том числе межбелковые в процессе обмена веществ или, что одно и то же, в процессе жизнедеятельности. При этом метаболом определяется как совокупность всех метаболитов, присутствующих в клетке или ткани в известных условиях.

Поток биологической информации в его структурно-временном оформлении невозможен вне клеточной организации, что дает основание ожидать зарождения в науке о жизни в XXI в. еще одной дисциплины - **целлюломики** (лат. *cellula* - клетка) или **цитомики** (греч. *cytos* - клетка). В отличие от клеточной биологии, фиксирующей внимание на раскрытии существенных черт клеточной структуры и функций, а также закономерностей организации и динамики клеточных тканевых систем (клеточных популяций), задача цитомики (целлюло-мики) видится в расшифровке механизмов генетического обеспечения и контроля клеточной дифференцировки и гистогенезов, а также генотипических и фенотипических основ разнообразия клеток одного морфо-функционального типа в свете данных геномики, транскриптомики и протеомики.

Источник KingMed.info

Выше названы **фундаментальные** биологические дисциплины. Между тем существуют области исследования биологических объектов, порождаемые практическими соображениями, и таким образом являющиеся в терминах науковедения **прикладными**. Так, изучается структура паразитоценозов в интересах медицины или животноводства. Прикладной характер имеют **биология человека (антропобиология), медицинская биология, биомедицина** (см. Предисловие). Прикладные исследования опираются на достижения фундаментальной биологии. Вместе с тем есть много указаний на относительность деления научных разработок на фундаментальные и прикладные.

1.2. История представлений о мире жизни.

Научный базис биологии

Интерес к познанию мира жизни сопровождает человечество на протяжении всей его истории. На заре этой истории интерес к живому окружению отражал **практические нужды** людей. Желание узнать, следует ли избегать встреч с теми или иными животными и растениями или, наоборот, использовать их в своих целях, объясняет, почему первоначально внимание к живым формам выливалось в попытки их подразделения (классификации) на полезные и опасные, болезнетворные, представляющие пищевую ценность, пригодные для изготовления одежды, орудий труда, жилищ, предметов обихода, удовлетворения эстетических запросов. Характерная черта человека - его способность сохранять и передавать потомкам опыт наблюдений за природными явлениями, благодаря чему этот опыт со временем преумножается, приводя периодически к качественно новым решениям ресурсных и иных проблем. Дошедшие до нас памятники еще «донаучного» периода истории человечества свидетельствуют об активном отношении людей к происходящему, их тонкой наблюдательности, стремлении к систематизации опыта в целях извлечения наибольшей пользы. На рис. 1.1 представлена печатка с таблицей, которая воспринимается как инструкция по разведению лошадей по результатам оценки фенотипов в ряду поколений. Символы расположены горизонтальными рядами, а головы лошадей по форме относятся к трем разным типам (генеалогический подход или метод родословных современной генетики).



Рис. 1.1. Изображение на печатке: запись о разведении лошадей в Двуречье, 6000 лет назад

Источник KingMed.info

На определенной стадии знакомства с живой природой в умах людей, наряду с представлениями о **разнообразии** организмов, возникает идея **единства** всего живого, включая людей. Одновременно проясняются роль и истоки разнообразия в живой природе. Возникает понимание **непротиворечивости биологического единообразия и многообразия**.

Решающим научным доказательством единства всего живого стала **клеточная теория** (см. п. 2.1) Т. Шванна и М. Шлейдена (1839). Открытие клеточного принципа строения растительных и животных организмов положило начало плодотворному изучению общих закономерностей, составляющих основу морфологии, физиологии, репродукции и индивидуального развития живых существ.

Открытием фундаментальных **законов наследственности** биология обязана Г. Менделю, описавшему правила наследования признаков на основе передачи в поколениях дискретных наследственных задатков (1865), Г. де Фризу, К. Корренсу и К. Чермаку, переоткрывшим в 1900 г. и сделавшим достоянием науки правила наследования Г. Менделя, Г. де Фризу, открывшему мутационную изменчивость (1901), основателям популяционной генетики Г. Харди и В. Вайнбергу, сформулировавшим закон генетического равновесия в популяциях организмов (1908), Т.Г. Моргану и его научному коллективу, создавшим хромосомную теорию наследственности (1910-1916), Дж. Уотсону, Ф. Крику, М. Вилкин-су и Р. Франклин, открывшим двойную спираль ДНК (1953). Названные законы раскрывают механизм передачи наследственной информации от клетки к клетке, а через клетки - от особи к особи и перераспределения ее в пределах вида в череде поколений, принципы структурно-функциональной организации генетического аппарата. Благодаря этим открытиям становится понятной роль таких биологических явлений, как половое размножение, смена поколений, онтогенез (индивидуальное развитие) и филогенез (историческое развитие).

Заключение о единстве всего живого подтверждают исследования **биохимических** (обменных, метаболических) и **биофизических механизмов жизнедеятельности клеток**. Начало этих исследований датируется второй половиной XIX в., однако наиболее весомы достижения **молекулярной биологии** (вторая половина XX в.). Благодаря молекулярно-биологическим исследованиям, уделяющим главное внимание закономерностям хранения, передачи и использования клетками биологической информации, были раскрыты физико-химические основы таких универсальных свойств живого, как наследственность и изменчивость, специфичность биологических макромолекул, структур и функций, закономерное воспроизведение в ряду поколений клеток и организмов определенного типа структурно-функциональной организации.

В контексте идеи единства мира жизни важно то, что живые формы **принципиально одинаковым образом хранят наследственную информацию, передают ее в ряду поколений или используют в своей жизнедеятельности, обеспечивают жизненные процессы энергией и переводят энергию в работу**.

Клеточная теория, достижения генетики, биохимии, биофизики и молекулярной биологии обосновывают тезис о единстве органического мира в его современном состоянии. То, что живое на планете едино в историческом плане, обосновывается **теорией эволюции (эволюционное учение)**. Естественно-научные основы теории заложены Ч. Дарвином (1858). Дальнейшее развитие, связанное с достижениями генетики и популяционной биологии, сравнительной эмбриологии и морфологии, палеонтологии, она получила в трудах А.Н. Северцова, Н.И. Вавилова, Р. Фишера, С.С. Четверикова, Ф.Р. Добжанского, Н.В. Тимофеева-Ресовского, С. Райта, И.И. Шмальгаузена, чья научная деятельность

Источник KingMed.info

относится к первой половине - середине XX в. Эволюционисты рубежа XX-XXI вв. развивают идеи о новых, в том числе «недарвиновских» факторах, механизмах и формах эволюционного процесса.

Эволюционная идея называет пути, способы и механизмы, которые за несколько миллиардов лет привели к наблюдаемому ныне **разнообразию** живых форм, в одинаковой мере приспособленных к среде обитания и различающихся по уровню структурно-функциональной организации. Другой важный итог эволюционной парадигмы состоит в признании, что **живые формы связаны друг с другом общностью происхождения (генетическое родство)**. Степень родства различается для представителей разных групп, а свое выражение оно находит в преемственности и общности фундаментальных молекулярных, клеточных и системных механизмов развития и жизнедеятельности. Такая преемственность (наследственность) сочетается с изменчивостью, позволяющей осваивать в пространстве и времени новые жизненные условия (экологическая и эволюционная пластичность), достигать высоких уровней структурно-функциональной организации (см. п. 1.4.4).

Восходящие к Ч. Дарвину представления об эволюции, в немалой степени инициированные потребностью объяснить разнообразие живых форм и природу механизмов их смены и зарождения, не касаются вопроса о том, что **делает жизнь жизнью во все времена**. Их необходимо дополнить с учетом специфической функции живых форм в «экономике» природы как **фактора интенсификации и стабилизации земных вещественно-энергетических круговоротов и потоков** (см. п. 1.4.3) - планетарная геохимическая роль живого вещества (В.И. Вернадский). В связи со сказанным **эволюцию живого** (или жизни) следует представлять не только как видообразование, но так же как **преобразование биосферы**, в ходе которого **эволюционируют сообщества** (экосистемы, биоценозы), историческая динамика которых обусловлена **эволюцией видов**. Сближение двух эволюционных парадигм - эволюции видов (таксонов) и эволюции экосистем и биосферы делает вклад эволюционной идеи в обоснование тезиса о единстве мира жизни особенно весомым.

Теория эволюции обращает внимание на **условность граней между неживой и живой природой** планеты, между **живой природой и человеком**. В соответствии с геохимической гипотезой происхождения жизни обосновано допущение, что важнейшие атрибуты жизни - самовоспроизведение на базе аутокатализа (матричный синтез), использование высокомолекулярных соединений углерода (нуклеиновые кислоты, белки), сохранение во времени существующей и наработка новой биологической информации, прогрессивное усложнение структур на основе случайной изменчивости и отбора могли возникнуть на «добиологическом» этапе истории планеты.

Закономерностям эволюции биологических форм не противоречит появление человека - социального и одухотворенного существа, жизнь которого неотделима от принципа клеточной организации структур и функций, молекулярно-биологических, генетических и экологических законов бытия. Эволюционная теория показывает истоки биологических механизмов развития и жизнедеятельности, предпосылки интеллектуальной и трудовой деятельности людей, то есть того, что относится к их биологическому «наследству».

Эволюционная идея в ее современном виде, обосновывая заключение о единстве мира жизни, одновременно обращает внимание на разнообразие групп (рис. 1.2) и вариантов структурно-функциональной организации живых форм. С одной стороны, разнообразие обуславливает высокий эволюционный потенциал жизни, то есть способность, изменяясь в деталях, сохранять себя во времени, несмотря на периодическую радикальную смену абиотических условий (сравни покровные оледенения и межледниковые периоды). С другой стороны, необходимость

Источник KingMed.info

разнообразия диктуется «инфраструктурой экономики» живой природы, которая в целях реализации феномена биогенной миграции химических элементов должна иметь необходимый набор видов (продуценты, деструкторы, консументы), выполняющих в биогеохимических круговоротах разные функции.

Хотя термин «экология» (греч. *oikos* - дом, жилище, местообитание) введен в биологический словарь Э. Геккелем во второй половине XIX в., по времени реального рождения экологию следует называть наукой XX в. По перспективам и силе влияния на умы и действия людей в ней также должно видеть одну из лидирующих научно-практических парадигм XXI в., причем настолько, что допустимо говорить о формировании **экологического стиля мышления**. Центральное положение в экологической науке занимают близкие по сути концепции **биогеоценоза** (В.Н. Сукачев) и **экологической системы** (А. Тенсли), датируемые первой половиной XX в. Обе концепции характеризуют глобальный принцип существования живых форм - только в составе сообществ в закономерном взаимодействии друг с другом. Сосуществование в таких сообществах представляет собой способ включения организмов в естественные вещественно-энергетические (биогеохимические) кру-

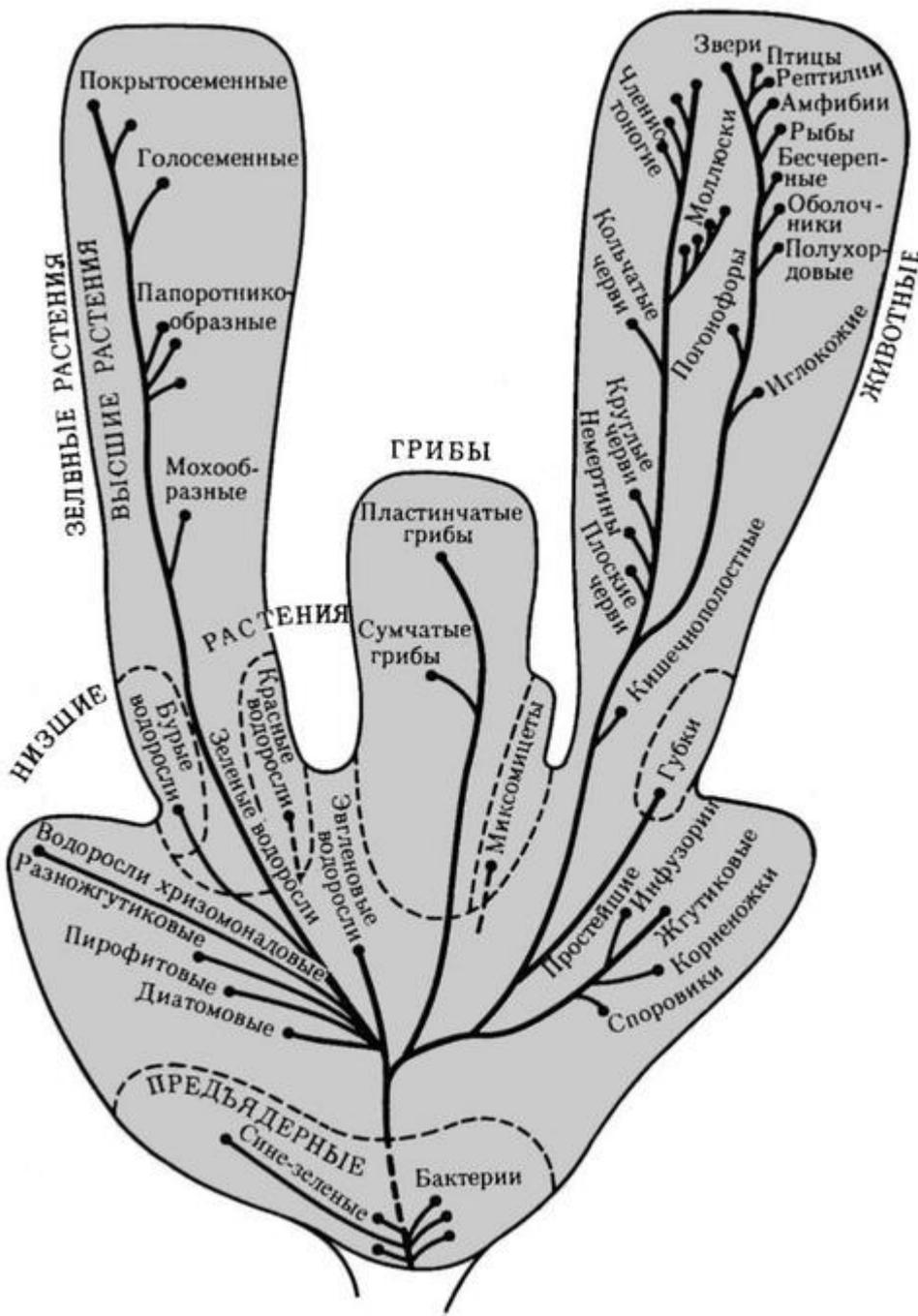


Рис. 1.2. Филогенетические отношения основных групп ядерных эукариотических организмов - растений, грибов, животных и предъядерных организмов - прокариот. Пунктиром обозначено предполагаемое положение групп

говорит, результатом чего становится интенсификация и стабилизация последних. Для достижения этого результата, однако, необходимо, чтобы сообщество включало **продуцентов**, возможно, **консументов** и **редуцентов (биоценоз)** и находилось во взаимосвязи с элементами атмосферы, гидросферы и литосферы (**биогеоценоз**).

Крупнейшим обобщением, обозначающим главные тенденции развития биологической науки в условиях присутствия на Земле продвигающегося в интеллектуально-экономическом отношении человеческого общества, является учение о **биосфере** (термин введен Э. Зюссом в 1875 г. для обозначения живой оболочки Земли), закономерно эволюционирующей в **ноосферу** (термин введен Э. Леруа в 1927 г. для обозначения оболочки Земли, отмеченной присутствием

Источник KingMed.info

человеческого общества со всеми атрибутами разумной деятельности). Свой вклад в разработку концепции биосферы на «досапиентной», то есть до появления *Я. sapiens*, и «сапиентной» стадиях ее существования внес В.И. Вернадский, который обосновал планетарную роль живого вещества (биосферы) через его участие в вещественно-энергетических круговоротах. Охарактеризовав человечество как самостоятельную геологическую силу, он назвал направления и возможные последствия преобразующей деятельности людей.

1.3. определение и фундаментальные свойства жизни

Многообразие форм жизни создает трудности для ее определения как явления. Первые подходы к решению этой задачи основаны на поисках свойств, качественно отличающих живое от неживого. **Жизнь определяли** как «питание, рост и одряхление» (Аристотель), «стойкое единообразие процессов при различии внешних условий» (Г. Тревира-нус), «совокупность функций, сопротивляющихся смерти» (М. Биша) или «способ борьбы с энтропией» (исследователи начала-середины минувшего столетия), «химическую функцию» (А. Лавуазье), «сложный химический процесс» (И.П. Павлов). Неудовлетворенность этими определениями понятна. Свойства живого, взятые каждое отдельно, лишены исключительности и обнаруживаются в объектах неживой природы.

Определение жизни как «особой, очень сложной формы движения материи» (А.И. Опарин), правильно утверждая ее качественное своеобразие и несводимость биологических законов к законам физическим и химическим, не раскрывает природу своеобразия. Есть мнение, что жизнь столь же вечна и повсеместна во Вселенной, как материя. Поэтому ее следует считать одним из фундаментальных свойств последней, чем-то сродни гравитации.

Полезны определения, основанные на выделении комплекса свойств, обязательного для живых существ. Одно из них характеризует жизнь как **макромолекулярную открытую систему**, которой свойственны **иерархическая организация, способность к самовоспроизведению, обмен веществ, регулируемый поток энергии**. И далее - **жизнь** представляет собой **ядро упорядоченности, распространяющееся в менее упорядоченной Вселенной**.

Рассмотрим типичные свойства жизни по отдельности. Живым формам присущ особый способ взаимодействия с окружающей средой - **обмен веществ (метаболизм)**. Его содержание составляют процессы **анаболизма (ассимиляция, пластический обмен)** и **катаболизма (диссимиляция, энергетический обмен)**. Задачей анаболизма является продукция веществ, необходимых организму в его жизнедеятельности, образовании и обновлении структур. Задача катаболизма - разложение органических соединений на составляющие, которые затем используются для целей энергообеспечения или служат «строительным» материалом. Катаболизм и анаболизм связаны таким образом, что высвобождаемая в ходе катаболических (**экзэргонических**) процессов энергия используется для приведения в действие энергопотребляющих (**эндэргонических**) анаболических процессов.

По типу обмена веществ земные живые существа подразделяются на **аутотрофные** и **гетеротрофные** организмы. Первые образуют сложные органические соединения из простых неорганических веществ, используя для этого энергию солнца (**фотоавтотрофы**) или энергию химических связей (**хемоавтотрофы**). В «экономике» природы ауто-трофам принадлежит важнейшая роль **первичных продуцентов (производителей) органики**. К ним относятся некоторые бактерии и все зеленые растения. Гетеротрофы не способны синтезировать органику из неорганики. Они получают ее в виде пищи.

Источник KingMed.info

Окисление пищевых веществ дает этим организмам необходимую для их жизнедеятельности энергию. В «экономике» природы **гетеротрофам отведена роль кон-сументов и деструкторов**. К ним принадлежат все животные. Люди - также гетеротрофы, правда, своеобразные. Для обеспечения своей жизнедеятельности и, без чего немислимо бытие человека, общественного обустройства они используют органику не только современного им исторического периода, но и ту, которая образовалась в далеко отстоящие во времени от наших дней минувшие эпохи. Речь идет об ископаемых видах топлива - каменном угле, нефти, природном газе, сланцах.

В многоклеточном организме выделяется **внешний и внутренний (внутриклеточный) обмен веществ**. Первый происходит между организмом и окружающей средой и заключается в поступлении в него питательных веществ, кислорода, воды, витаминов, минеральных солей и выделении в окружающую среду конечных продуктов обмена, прежде всего углекислого газа и воды. Во втором случае двусторонний обмен устанавливается между клетками и внеклеточной средой, являющейся, по существу, внутренней средой организма.

Для осуществления обмена, с одной стороны, необходим приток веществ извне, а с другой, - не утилизируемые продукты обмена должны выделяться во внешнюю среду. При этом поток веществ через организм неразрывно связан с потоком энергии. Таким образом, организм или клетка в **вещественно-энергетическом плане** относительно окружающей или внеклеточной среды являются **открытыми системами**.

Процессы катаболизма и анаболизма представлены химическими реакциями, объединенными в метаболические циклы и каскады (**химические превращения**), структура которых отличается **упорядоченностью во времени и пространстве** (прежде всего, речь идет об объеме клетки). Итогом метаболического цикла является определенный биологически значимый результат - на рибосоме из аминокислот образуется полипептид, а поступающий в митохондрию из основного вещества цитоплазмы пируват (анион пировиноградной кислоты) через ряд превращений в матриксе (цикл Кребса) и во внутренней мембране (цепь переноса электронов) органеллы доводится до углекислого газа и воды с образованием высокоэнергизированных (макроэргических) молекул аденозинтрифосфата (АТФ).

Упорядоченность различных составляющих обмена веществ достигается благодаря **структурированности (компартаментации) объема клетки**. Так, предшествующий клеточному делению синтез ДНК происходит в ядре, гидролитическое расщепление поступающих в клетку веществ или разрушение «износившихся» внутриклеточных структур - в лизосомах, упаковка в оболочку выделяемых экзокринной железистой клеткой гранул секрета - в пластинчатом комплексе Гольджи.

Правило компартаментации распространяется на оба типа клеточной организации - **прокариотический и эукариотический**, хотя способы его реализации различны. Различна также **эволюционная и экологическая стратегия про- и эукариот**. Для первых, не без оснований называемых доминирующей формой жизни во все времена, выживание и широкое расселение путем освоения разнообразных (в том числе и с «экстремальными» абиотическими характеристиками; бактерия *Pyralobus fumaris*, например, растет при температуре 113 °С) экологических ниш связаны с исключительной метаболической (биохимической) лабильностью (гибкостью), тогда как для вторых типично преобразование структур при относительной консервативности обменных процессов. Есть мнение, что в биохимии полезны не признаки, а цепи реакций. Оно указывает на возможное своеобразие способов компартаментации у прокариот, уходящих корнями в область межмолекулярных взаимодействий. Так, согласно одной

Источник KingMed.info

из точек зрения, регуляция функциональной (матричной) активности ДНК связана с циклом «компактизация-декомпактизация» двойной спирали. Первый шаг в компактизации ДНК эукариот заключается в образовании нуклеосом. Многими бактериями гистоновые белки не образуются и нуклеосом-ный способ компактизации не используется. Но степень компактизации прокариотической ДНК (укорочение в 1000-10 000 раз) вполне сопоставима со степенью компактизации ДНК эукариотических клеток. Предположительно, свою роль в сверхспирализации ДНК прокариот играют специальные белки, в том числе не гистоны, но основного характера, взаимодействующие с ней.

Значение пространственно-временной упорядоченности процессов в клетке трудно переоценить. К примеру, тело микоплазмы - микроорганизма, занимающего по размерам промежуточное положение между вирусами и типичными бактериями, - по диаметру превосходит атом водорода всего в 1000 раз. Существование микоплазмы, тем не менее, обеспечивается примерно сотней согласованных биохимических реакций. Жизнедеятельность клетки млекопитающего требует для своего обеспечения порядка 10 000 реакций.

В соответствии со вторым законом термодинамики, в энергетически изолированных системах количество энтропии (величина, обратная упорядоченности) с течением времени нарастает. Одним из характерных свойств живых объектов является их **способность противостоять росту энтропии**, поддерживая присущую им организацию. Образование элементов и сборка из них внутриклеточных структур (анаболизм), отличающихся высокой упорядоченностью, происходят с уменьшением энтропии. Однако параллельно осуществляется окисление пищевых веществ (катаболизм), источником которых является внешняя среда, что сопровождается адекватным увеличением ее энтропии. Поэтому для

полноразмерной биологической системы - «организм и среда его обитания» - изменение энтропии в целом положительно. Ситуация в мире жизни, таким образом, не противоречит упомянутому второму закону термодинамики. Высокая упорядоченность структуры и функций живого существа «оплачивается» энергией, высвобождаемой за счет деструктивных процессов, производимых этим существом в окружающей среде.

Связь живых форм со средой обитания - еще одно неперемное свойство жизни. Важное следствие прогрессивной эволюции заключается в том, что параметры внутренней среды организма выводятся из под прямого влияния факторов внешней среды (сравни, температура тела у холодно- и теплокровных животных, онтогенез низших позвоночных, например, рыб и внутриутробное развитие млекопитающих). Свойство живых существ сохранять постоянство внутренней среды, несмотря на колебания показателей окружающей среды, соответствует биологическому понятию **гомеостаза**.

Жизнь - это процессы **самовоспроизведения** (размножения) и **самообновления**. В результате этих процессов, с одной стороны, воспроизводятся организмы определенного типа структурно-функциональной организации, а с другой, - воссоздаются структуры, сменяющие те, которые утрачиваются в ходе жизнедеятельности особи.

Свойства самовоспроизведения и самообновления обеспечиваются использованием живыми формами для сохранения своей организации **генетической (биологической) информации**. Последняя отбирается по признаку биологической целесообразности в процессе эволюции видов, накапливается в их гено(аллело)фондах и служит основой воспроизведения и жизнедеятельности организмов соответствующего вида в каждом следующем поколении.

Химия биоинформационного обеспечения развития и существования живых форм заключается в использовании уникальных химических соединений, которые в современных условиях не

Источник KingMed.info

обнаруживаются в неживой природе. Это **информационные макромолекулы (биополимеры)**. **Белки**, большинство которых в клетке играет роль катализаторов (ферменты). Они обеспечивают реализацию метаболических процессов с достаточной скоростью и требуемым результатом при мягких условиях температуры и давления. Ферменты отличаются специфичностью. Они катализируют превращения групп веществ определенной химической структуры или даже отдельного соединения. Специфичность ферментов, так же как и белков, не несущих каталитической функции (например,

«строительных» - коллагены и эластин соединительной ткани, «транспортных» - гемоглобин), зависит от их первичной структуры, то есть от последовательности аминокислот. Каждое очередное «поколение молекул» определенного белка воспроизводит заданную первичную структуру и, следовательно, несет в себе идентичную информацию. Последнее гарантирует выполнение требуемой функции. Постоянство информации на уровне молекул белка достигается тем, что в основе их воспроизведения лежит **матричный синтез**. Роль матриц выполняет другой вид информационных биополимеров - **нуклеиновые кислоты**. Информация, сохраняемая в молекулах ДНК, будучи записанной в виде последовательности троек нуклеотидов, переносится на белок и переводится на язык аминокислотных последовательностей при помощи молекул РНК. **Наличие, хранение и реализация специфической биологической (генетической) информации** на основе использования **уникальных биоинформационных макромолекул - нуклеиновых кислот и белков** - составляет еще одно свойство жизни. Информационные биополимеры представляют собой **высокомолекулярные соединения углерода**.

Оценивая структуру внутриклеточного потока информации (ДНК - РНК - белок - структура и функция), отметим, что его начальное звено (ДНК) соответствует сохраняемой, оберегаемой и закономерно предоставляемой для нужд клетки, но не действующей непосредственно форме информации (назовем ее потенциальной). Информация, перенесенная на молекулы белка, напрямую реализует себя в процессах жизнедеятельности и, следовательно, является действующей формой (назовем ее актуализированной). В приведенной схеме легко узнаются две неперенные стороны любого живого существа - его **генотип** (у прокариот **геном**) и **фенотип**.

Жизнь представлена совокупностью пространственно отграниченных друг от друга и от окружающей среды форм - организмов, что соответствует такому ее свойству как **дискретность (отграниченность)**.

Воплощение стартовой наследственной информации (генотип), с которой начинает свое существование организм, в действующую информацию его рабочих молекул и структур (фенотип) происходит в процессе **индивидуального развития**, или **онтогенеза**, этого организма, обязательность которого соответствует еще одному универсальному свойству живых форм.

Живые конструкции разного уровня (клетки, клеточные тканевые системы многоклеточных, организм в целом, популяции организмов,

экосистемы) обладают свойством изменять свое состояние в зависимости от колебаний параметров среды, в которой они существуют. При этом совершается работа. Такие изменения в целом имеют приспособительное значение и происходят благодаря механизмам регистрации соответствующих колебаний, анализа поступающих данных, выработки «решения» по содержанию и интенсивности ответа. Названное свойство позволяет рассматривать живые конструкции как **кибернетические устройства**, в существовании которых задействованы законы **информатики** - передачи и переработки информации, механизм обратной связи.

Источник KingMed.info

Термин информация употребляется здесь в широком смысле. Биологическая информация, о которой речь шла выше, качественно и количественно соответствует генетической информации ДНК. Информация в кибернетическом смысле включает и «личный» опыт живого объекта. В перечне универсальных свойств жизни периода классической биологии значатся **раздражимость** и **возбудимость**. В случае раздражимости речь идет о способности живого вещества как такового (**протоплазма**) реагировать на воздействия, в случае возбудимости - о способности этого вещества переходить в состояние, сопровождающееся выполнением работы. В качестве примера назовем механохимическую систему, обуславливающую мышечное сокращение. Оно происходит в ответ на стимул (нервный импульс) путем сочетанных конформационных (пространственных, объемных) изменений комплекса белков (миозин, актин, тропонин, тропомиозин). По завершении акта сокращения комплекс возвращается в исходное состояние готовности вновь совершить работу.

В процессе жизнедеятельности выполняется не только **механическая**, но и другие виды работы - **химическая (синтезы), осмотическая, электрохимическая, регуляторная**. Это требует адекватного энергообеспечения. Решение проблемы энергообеспечения проявлений жизнедеятельности состоит в том, что в эволюции был найден **общий энергетический интермедиат** (звено, связывающее ката- и анаболизм), который принимает энергию от всех реакций окисления пищи и доставляет ее к месту совершения работы. Наличие **универсального переносчика энергии (высокоэнергетический фосфат или АТФ)** - одно из свойств жизни.

Среди свойств жизни 2 представляются изначальными, то есть лежащими у ее истоков, ее создавшими и сохраняющими как особое явление материального мира. Это включенность живых форм в **процесс**

исторического развития (эволюция) и их существование во **взаимодействии друг с другом в составе сообществ** - биоценозов или экосистем, объединенных в живую оболочку планеты - биосферу.

1.4. происхождение жизни

Гипотезы о происхождении земной жизни нельзя рассматривать даже как рабочие в силу невозможности их экспериментальной проверки. Можно, однако, оценить большую или меньшую вероятность предлагаемых версий, соответствие их общей логике мироздания, законам динамики материи и энергии, в частности термодинамическим. Следуя таким путем, удастся составить представление об условиях, факторах и движущих силах, которые, с одной стороны, могли привести к возникновению жизни, а с другой - задают главный вектор ее исторического развития.

Знакомство с проблемой происхождения земной жизни возможно ограничить рассмотрением гипотез панспермии, абиогенеза и биогеохимической.

1.4.1. ГИПОТЕЗА ПАНСПЕРМИИ

Гипотеза **панспермии** связана с именами выдающихся естествоиспытателей С. Аррениуса, Г. Гельмгольца, В.И. Вернадского, У. Томсо-на (лорда Кельвина). Согласно их видению, жизнь, представляя собой явление космического масштаба, столь же вечна и повсеместна во Вселенной, как и материя. Появление ее на Земле объясняется **проникновением «зародышей»**, постоянно **«странствующих» в космическом пространстве**. Известны расчеты С. Аррениуса, подтверждающие возможность межпланетного переноса живых конструкций, сходных по размерно-весовым параметрам с бактериальными спорами, под давлением света. В 20-е гг. XX в. В.И. Вернадский на основании анализа структуры и геохимии осадочных пород

Источник KingMed.info

пришел к выводу, что в истории Земли не существовало периода, когда названные породы были бы образованы исключительно абиогенным путем. Углерод заведомо органического происхождения (отличается более высоким содержанием легкого изотопа ^{12}C относительно тяжелого ^{13}C) обнаружен в древнейших на Земле осадочных породах (геологическая формация Исуа в Гренландии, возраст 3,85 млрд лет). Следуя этой линии, допустимо предположить, что жизнь существовала на планете всегда, причем «инфицирование» могло случиться на стадии газопылевого облака.

Прямых свидетельств в пользу космического происхождения земной жизни не существует. Нет также надежных доказательств существования «межзвездной жизни» и ее повсеместного распространения во Вселенной. Хотя метеоритное вещество богато органикой, внеземное происхождение последней требует подтверждения. Во-первых, необходимо исключить возможность загрязнения метеоритов микроорганизмами после достижения ими земной поверхности. Во-вторых, органический материал метеоритов лишен свойства хиральности. Особенностью земных биополимеров является то, что белковые молекулы образованы исключительно левовращающими оптическими изомерами аминокислот, а молекулы нуклеиновых кислот содержат только правовращающие изомеры сахаров - феномен **хиральной чистоты**. Хотя хиральность биополимеров - непреложный факт, биологический смысл и корни явления далеки от понимания. Одно из объяснений состоит в том, что коль скоро молекула белка представляет собой спираль, то она должна обладать предпосылкой к закручиванию лишь в одну сторону. Спиральная конфигурация позволяет белковым молекулам «звинчиваться» в жидкокристаллическую структуру воды. Хиральность рибозы и дезок-рибозы нуклеиновых кислот необходима для образования двойных спиралей. Предполагается также, что хиральность мономеров является условием оформления макромолекулярной системы с белок-поли-нуклеотидным взаимосоответствием. В-третьих, метеоритная органика не воспроизводит еще одной характеристики, которая доказывала бы ее биогенное происхождение. Выше упоминалось, что органический углерод, прошедший фотосинтез, обогащается более легким изотопом ^{12}C . Последнее дает увеличение значений отношения $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$, что не показано для метеоритного материала. Сообщения о наличии на Марсе углерода со смещенным в сторону легкого изотопа отношением требуют подтверждения.

Как бы ни решился вопрос о природе метеоритной органики, гипотеза панспермии не содержит ответа на вопрос, каким образом, в связи с какими обстоятельствами, когда и в каких точках Вселенной жизнь возникла впервые. Открытым остается вопрос о факторах, обусловивших историческое развитие уже земной жизни, давшее современные ее формы. Приведенные вопросы не требуют ответа, если жизнь объявляется одним из фундаментальных свойств материи. В таком случае проблема происхождения жизни ставится в один ряд с проблемой происхождения, например, гравитации.

1.4.2. ГИПОТЕЗА АБИОГЕНЕЗА

У истоков гипотезы **абиогенеза** стоял Э. Геккель. Суть гипотезы заключается в признании абиогенного (случившегося в отсутствие живых существ) образования органических веществ из неорганических непосредственно на планете.

В середине XIX в. Л. Пастер доказал невозможность самозарождения жизни в современных условиях. В 20-х гг. XX в. биохимики А.И. Опарин и Дж. Холдейн предположили, что в условиях, имевших место на Земле несколько миллиардов лет назад, образование живого вещества (органики) из неживого было возможным. Среди этих условий - атмосфера восстановительного типа, вода и источники энергии (ультрафиолетовое и космическое излучение, тепло остывающей

Источник KingMed.info

земной коры, вулканическая деятельность, радиоактивный распад элементов, атмосферные электрические явления), приемлемая температура, отсутствие живых существ. Линия жизни выстраивалась следующим образом:

- 1) образование **атмосферы из газов** (метан, оксид и диоксид углерода, аммиак, сероводород, цианиды), **служащих «сырьем» для синтеза органических соединений;**
- 2) **абиогенное образование простых органических веществ**, в том числе мономеров современных биополимеров (аминокислоты, азотистые основания, сахара, АТФ и другие мононуклеотиды);
- 3) **полимеризация мономеров** в полимеры - белки (полипептиды) и нуклеиновые кислоты (полинуклеотиды);
- 4) концентрация абиогенной органики в водной среде с образованием **«первичного бульона»;**
- 5) **обособление в «бульоне»** предбиологических дискретных форм более или менее сложного химического состава - **протобионтов**, проявляющих некоторые свойства живых форм (уплотненный поверхностный слой, имитирующий мембрану, рост за счет поступления веществ извне, «размножение» путем распада с сохранением особенностей химической организации, предбиологический отбор на стабильность и эффективность «закачки» органики из окружающей среды - прообраз обмена веществ);
- 6) возникновение **простейших форм с полной совокупностью свойств жизни - примитивных клеток**-гетеротрофов, питающихся органикой «бульона»;
- 7) **биологическая эволюция** возникших существ.

Гипотеза абиогенного происхождения жизни прошла по-своему плодотворный путь. Доказано образование органических соединений, в том числе сложных - полипептидов и полинуклеотидов - из неорганических веществ через стадию молекул-предшественниц в условиях, имитирующих те, которые могли существовать на планете в соответствующий период ее истории. Созданы модели протобионтов - **коацерваты** (гетерогенный химический состав - полипептиды, полинуклеотиды) и **микросферы** (однородное белковое содержимое).

Вместе с тем рассматриваемая гипотеза не дает ответа на вопрос о природе хиральной чистоты современных биополимеров. Получаемые в эксперименте абиогенным путем аминокислоты представляют собой смесь лево- и правовращающих изомеров, которые имеют равные химические шансы быть включенными в полипептид. Среди синтезированных в лабораторных условиях сахаров оптическая изомерия вообще не встречается. Согласно проведенным расчетам, вероятность случайного возникновения «осмысленной» полинуклеотидной последовательности из смеси мононуклеотидов «бульона» настолько низка, что потребное на это время на много порядков (!) превосходит время существования даже не Земли, но Вселенной (15-20 млрд лет). Далее, «первичный бульон», являясь исчерпываемым ресурсом, был бы быстро уничтожен, если бы, следуя предлагаемой сторонниками гипотезы схеме, первыми живыми существами оказались гетеротрофы. Данные об исключительно раннем появлении на планете углерода со смещенным в сторону легкого изотопа соотношением $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$ (см. выше - формация Исуа в Гренландии) указывают на существование уже тогда фотосинтеза, что говорит об одновременном возникновении авто- и гетеротрофности. Это подтверждает сравнение современных строматолитов цианобактериальных матов и ископаемых строматолитов докембрийского периода (см. п. 1.4.4). В обоих случаях есть основания говорить о высокоинтегрированных сообществах прокариотических организмов, различающихся по типу

питания, то есть о присутствии среди первых «обитателей» планеты одновременно продуцентов (производители органики из неорганики), консументов (потребители органики для создания собственной органики) и редуцентов или деструкторов (разрушители органики), автотрофов и гетеротрофов. В свете сказанного жизнь на Земле сразу же складывалась как экосистема. В рамках гипотезы абиогенеза не нашел удовлетворительной проработки также вопрос о переходе от «осмысленных» биополимеров (полипептиды и полинуклеотиды), даже если признать факт их образования в «бульоне», к клеточной организации.

1.4.3. ГЕОХИМИЧЕСКАЯ ГИПОТЕЗА

Наиболее, видимо, правдоподобная на настоящее время гипотеза о происхождении жизни исходит из того, что **живая составляющая** формировалась **как дополнение к существовавшему на планете геохимическим вещественно-энергетическим круговоротам.**

Эта гипотеза согласуется с положениями неравновесной термодинамики (И. Пригожин) и теории самоорганизующихся систем (У. Эшби). В открытых системах в сильно неравновесных условиях (например, земные геохимические круговороты, провоцируемые разницей температур космического пространства и вещества планеты) могут самопроизвольно образовываться упорядоченные структуры. Последние получили название диссипативных в связи с их свойством рассеивать пропускаемую через себя энергию. В таких системах диссипация (рассеивание и, следовательно, безвозвратная потеря системой энергии) выполняет не деструктивную, а созидательную роль, придавая им статус самоорганизующихся. Отличительная черта **диссипативных самоорганизующихся систем**, к которым принадлежат живые организмы, заключается в их способности эволюционировать и, таким образом, сохранять состояние приспособленности и, следовательно, себя самих при изменении условий. Для этого они используют, с одной стороны, информацию об опыте самосохранения, приобретенную ранее, а с другой - создают новую информацию как предпосылку к самоизменению или самокоррекции под предстоящий опыт. В процессе такого самоизменения происходит усложнение системы.

Для достижения этих результатов (сохранение во времени состояния приспособленности или самосохранение и, параллельно, усложнение в ходе самокоррекции) необходимо выполнение ряда требований. Так, должен действовать автокаталитический механизм самовоспроизведения диссипативной структуры. Им может быть, например, матричный синтез (см. образование ДНК, РНК и полипептидов в клетке). Для сохранения структуры в перспективе необходим постоянно действующий механизм пополнения и обновления информации. Новая информация появляется, если самовоспроизведение системы происходит на фоне «информационного шума» (см. мутации) с участием механизма естественного отбора. Отбор называют «естественным», если материалом для него служит набор случайных по информационному содержанию вариантов (см. феномен неопределенной генотипической изменчивости, резерв наследственной изменчивости). Эффект прогресса возникает, если отбирается и сохраняется информация, способствующая интенсификации функции диссипации (см. адаптации общего значения, обеспечивающие приспособление к широкому кругу условий). Описываемые события вполне соответствуют тому, что происходит в эволюционирующем мире земной жизни.

«Отбираемые», самоинструктирующиеся и самовоспроизводящиеся системы, способные менять структуру в сторону ее усложнения, известны и вне биологии, в частности, в химии. Они получили название **(авто) каталитических гиперциклов** (М. Эйген).

Сторонники геохимической гипотезы появления жизни связывают с существовавшими на заре истории Земли **геохимическими вещественно-энергетическими**

круговоротами, приводимыми в движение температурным градиентом между более теплой планетой и холодным космосом. Добавлением биологической составляющей, превращающим геохимические процессы в **биогеохимические**, достигалась интенсификация движения химических элементов и, как следствие, стабилизация структуры круговоротов. Первое - за счет использования постоянного внешнего источника энергии (солнце), второе - благодаря возможности создать в световую фазу резерв энергии (органика фотосинтетического происхождения), расходуемый в темновую фазу, а также повышению степени замкнутости циклов. «Борьба» за энергию составляла основу конкурентных отношений между гиперциклами. Один из выигрышных путей состоял в объединении и согласованных изменениях (коэволюция) различающихся по исходным параметрам гиперциклов. Результат - образование более эффективных (как движущая сила вещественно-энергетических круговоротов) и устойчивых конструкций следующего порядка сложности - **иерархия структур, принцип экосистемы**.

Усложнение самоорганизующихся систем характеризуется важным следствием. По достижении критического уровня структура становится самоподдерживающейся (Дж. фон Нейман). В происхождении земной жизни этому критическому уровню соответствовал, видимо, **«сверхгиперцикл»** с типом организации, описываемым сейчас словом **«клетка»**. Рассматриваемая гипотеза происхождения жизни отличается качественным своеобразием. Она является **геохимической**, в то время как гипотезы панспермии и абиогенеза - **биохимическими**. Привлекательность геохимического подхода состоит в том, что он возвращает жизнь как явление в область «обычных», то есть термодинамически понятных событий. Определяя специфическое место жизни в «экономике» планеты как эффективного инструмента оптимизации и стабилизации вещественно-энергетических круговоротов, геохимический подход позволяет отойти от фактора случайности в ее возникновении (гипотеза абиогенеза) или же умозрительной оценки ее как изначального и неотъемлемого свойства материи (гипотеза панспермии).

Геохимическая гипотеза, тем не менее, оставляет без рассмотрения события, которые могли происходить на стадии абиогенного образования ключевых органических молекул и специфических биополимеров. Так, закономерен вопрос, каким образом было преодолено противоречие между необходимостью иметь одновременно фермент (полимер-раза), управляющий образованием информационной макромолекулы (ДНК или РНК), и саму эту молекулу, кодирующую структуру названного фермента (вопрос средневековых схоластов: «Что первично - яйцо или курица?»).

1.4.4. ЖИЗНЬ ВОЗНИКАЕТ КАК СООБЩЕСТВО

Геохимическая гипотеза не противоречит палеонтологическим данным, согласно которым с самого начала жизнь была представлена в виде сообществ (ценозов). Эти **«первые» в истории жизни (био)ценозы** представляли собой не набор организмов, а **систему (био)химических реакций**. Природу указанных реакций в наши дни охарактеризовать нельзя. Первый шаг биопоза (биогенеза), таким образом, состоял в возникновении метаболизма (**«доорганизменный»** этап). Средой формирования первичного метаболизма, включавшегося в геохимические (неорганические) круговороты, мог быть **водный гель**. **Организмы как обособленные единицы жизни** появились лишь на определенной стадии биопоза (биогенеза). Найденные биохимические следы жизни (3,85 млрд лет, Гренландия) на 400 млн лет старше, чем следы самых древних клеток (3,4-3,5 млрд лет, Австралия и Южная Африка). На пути от первых ценозов к примитивным организмам оформилось такое

Источник KingMed.info

неотъемлемое свойство жизни, как **наследственность**. Первичным материальным субстратом этого свойства считают не ДНК,

а РНК.

Примером простейших сообществ, сохраняющихся поныне, служат **гидротермы (гидротермали)**, находящиеся на значительных глубинах в зонах выброса горячих газов, растворов и взвесей из разломов океанического дна - «**черные и белые курильщики**». В устьях гидро-

терм обнаружены **прокариотические биоценозы** из литотрофных (в переводе с греческого - «камнееды», хотя пищей им служат газы - водород, углекислый газ и др.; предпочтителен перевод - «питающиеся неорганикой») бактерий из наиболее древней по времени появления на Земле группы архебактерий (*Archaea*). Они, восстанавливая углекислый газ и серу, окисляя водород, выделяя метан и сероводород, создают запас энергии. Последняя используется в реакциях хемосинтеза, органическим продуктом которого может быть глюкоза. Часть органики потребляется членами гидротермальных биоценозов, другая - выносится из зоны гидротермали в воду с приемлемой для живых форм температурой и растворенным в ней кислородом.

Геохимическая функция описанных литотрофных бактерий состоит в том, что они, образуя из неорганики земных недр органику и выполняя, таким образом, роль истинных первичных продуцентов, включают в биологические круговороты основные химические элементы - серу, азот, углерод и водород. Так как не вся производимая в гидротермальных органика утилизируется на месте, круговорот оказывается незамкнутым. Известно, что описанные литотрофы и продукты их жизнедеятельности служат пищей массе организмов, среди которых есть и крупные беспозвоночные, например, головоногие моллюски. Эти организмы завершают утилизацию, возвращая планетарным круговоротам химические элементы.

Сходными событиями был, видимо, отмечен в истории Земли **переход от геохимических к биогеохимическим круговоротам**. Ценозы литотрофных архебактерий как первичных продуцентов органики формировали базу для более сложной и разнообразной жизни.

Следующий шаг мог состоять в появлении аэробных гетеротрофных прокариот, окисляющих выбрасываемую из зоны гидротермалей органику до углекислого газа и воды, тем самым замыкая теперь уже биогеохимические круговороты.

На реликтовую природу гидротермальных сообществ указывают, с одной стороны, принадлежность их членов к группе архебактерий, а с другой - условия существования. Оптимум роста литотрофов - 110 °С (так как в океанических глубинах давление достигает колоссальных величин, точка кипения воды сдвигается на десятки и сотни градусов - принцип скороварки). Во времена зарождения жизни мировой океан был представлен кислым кипятком и под большим давлением дули метановые и аммиачные ветры.

Примером происхождения земной жизни по геохимическому сценарию, причем сразу в виде сообществ, являются **цианобактериальные**

маты, обнаруживаемые на мелководье в пересоленных лагунах (Сиваш в Крыму, оз. Балхаш в Казахстане). Мат (в переводе с греческого - «каменный ковер») - это сообщество прокариотических организмов, обитающих на небольших по размерам рифовых структурах (**строматолиты**). Такие сообщества присутствуют в современной биоте Земли, но их следы находят также в докембрийских (более 540 млн лет назад) осадочных породах. В структуре мата выделяют верхний слой или поверхность роста, который заселен, с одной стороны, автотрофами - производящими кислород фотосинтезирующими цианобактериями, а с другой -

Источник KingMed.info

гетеротрофными бактериями - облигатными (обязательными, строгими) аэробами. Одна группа микроорганизмов следующего слоя или подкладки - это автотрофы, которые, используя в качестве источника водорода не воду, а, например, сероводород, осуществляют бескислородный фотосинтез. Вторая группа образована микроорганизмами - факультативными аэробами и гетеротрофами. Ниже поверхности роста и подкладки находится слой, заселенный детритоядными анаэробами. Цианобактериальный мат, таким образом, является сообществом прокариот со сложной трофической структурой. Два верхних слоя - это продуценты и консументы первого порядка (аналоги, соответственно, «растений» и «травоядных»), соединенные в цепь пастбищного типа. Третий слой - это редуценты («падальщики»), которые получают органику из верхних слоев по детритной цепи. В сравнении с гидротермальным биоценозом, он характеризуется замкнутыми круговоротами кислорода и органических веществ.

В приведенных примерах один из предполагаемых аналогов раннего биогенеза (гидротермы) размещается в океанических глубинах, тогда как второй (цианобактериальные маты) - это высыхающие лужи. С учетом условий, характеризовавших планету несколько миллиардов лет назад, здесь нет противоречия. Атмосфера Земли того времени, состоявшая, в том числе, из углекислого газа, создавала гораздо более высокое давление (такое, как сейчас на Венере), а гребни океанических хребтов с разломами нередко поднимались над поверхностью тогда неглубокого горячего океана, богатого отмелями.

Причисление живых форм к самоорганизующимся системам, отвечающим правилам, распространяющимся на природу в целом, позволяет увидеть **механизм естественного перехода от неживого к живому** - через эволюцию и коэволюцию автокаталитических геохимических гиперциклов с включением в них биогеохимических сегментов (за счет активности древнейших прокариотических сообществ,

аналогичных цианобактериальным матам или литотрофным ценозам «курильщиков» современности).

Палеонтологический факт состоит в том, что в раннекембрийских отложениях (возраст 540 млн лет или 1/7 длительности существования земной жизни) обнаруживаются ископаемые представители почти всех подразделений и типов современного животного мира, включая хордовых. Это означает, что в предшествующие эры, объединяемые в докембрий, нашли решение все принципиальные задачи вещественно-энергетического, информационного и структурно-функционального обеспечения жизни. При этом был создан высочайший эволюционный и экологический потенциал. Гиперциклы на основе углеродсодержащих высокомолекулярных соединений (нуклеиновая кислота-полипептид), матричный синтез и естественный отбор среди самовоспроизводящихся с «информационным шумом» (мутации) структур как геохимическая сила возникли с первыми водоемами - 4,0-3,8 млрд лет назад. Переход от геохимических к биогеохимическим круговоротам, оформление первых экосистем и первичной биосферы датируются временем в 3,1 млрд лет назад. Это был прокариотный мир, уже освоивший «традиционные» пути энергообеспечения жизненных процессов (анаэробный и аэробный, брожение, фото- и хемосинтезы) и типы питания (автотрофность, гетеротрофность, детритофагия). В биоинформационной области стабилизировалась величина «информационного шума» (10^{-5} - 10^{-7} мутаций на локус ДНК за поколение). Тогда же сложились, по-видимому, механизмы коррекции ошибок в молекулах ДНК.

1.4.5. ОТ ПРЕДЖИЗНИ К ЖИЗНИ: ОФОРМЛЕНИЕ ПОТОКА БИОЛОГИЧЕСКОЙ ИНФОРМАЦИИ

Живые формы представляют собой дискретные, структурированные, гомеостазированные, самоинструктирующиеся, самовоспроизводящиеся и «отбираемые» системы, что требует наличия у них свойства **наследственности**. В земной жизни оно обеспечивается информационными макромолекулами - ДНК, РНК и белками, являющимися главными участниками **потока биологической (генетической) информации** и находящимися в закономерных функциональных отношениях. Вопрос о том, как возник механизм информационного обеспечения жизненных процессов или передачи биоинформации в ряду поколений, до сих пор не имеет однозначного ответа. С ним, однако, связано понимание, каким образом совершался переход от «преджизни» к жизни, от добиоло-

гического к биологическому периоду истории планеты. Три момента здесь представляют интерес. Первый - в силу каких обстоятельств **возникли «осмысленные» нуклеотидные последовательности, являющиеся молекулярными «текстами» жизни**. Второй - каковы корни **механизма редупликации «осмысленных» полинуклеотидов**. Третий - как произошло **сопряжение двух систем записи биологической (генетической) информации («языков жизни»)** - использующей нуклеотиды (ДНК, РНК) и аминокислоты (белки). Случайное возникновение из смеси предшественников «осмысленной» нуклеотид-ной последовательности исключается, так как вероятность указанного события ничтожна. Время, необходимое для того, чтобы несколько килограммов типографского шрифта, сброшенного с крыши небоскреба, сложились в текст на известной странице романа «Война и мир», даже не в разы, но в порядки превосходит время существования Вселенной (15-20 млрд лет).

Из предлагаемых версий, содержащих суждения по указанным моментам и иногда откровенно называемых учеными «сказками», приведем одну. На переходном этапе на планете существовал **РНК-овый мир**, в котором веществом наследственности была РНК. Ее преимущество в сравнении с ДНК состоит в том, что, кроме способности быть носителем информации, РНК обладает ферментативной активностью. Одни **рибозимы (РНК-ферменты)**, катализировавшие на этапе преджизни собственный синтез (самовоспроизведение, ауторепликация), дали элементы аппарата наследственности. Другие катализировали образование полипептидов (протеиноидов). В дальнейшем они дали аппарат синтеза белка (рибосомы, транспортные РНК). Ряд минорных (редких) нуклеотидов, в частности из числа производных 5-оксиметилурацила, являются стереохимическими аналогами аминокислот - цистеина, аргинина, тирозина. Это могло привести к «согласованному» отбору (а в дальнейшем к функциональному сопряжению) полинуклеотидов и протеиноидов по критерию химического подобия, возможно, вплоть до некоторой взаимозаменяемости в геохимических круговоротах. Информация о каталитической активности конкретных протеиноидов могла фиксироваться полинуклеотидами. В сравнении с настоящим временем, когда в составе РНК обнаруживается, в основном, 4 нуклеотида, в период зарождения жизни число активно используемых «строительных блоков» было, по-видимому, больше - не менее 30 - за счет редких форм. В существовавших тогда условиях (температура порядка 100 °С) такие формы возникали чаще. Это увеличивало разнообразие РНК-полинуклеотидов. В тот же период количество аминокислот (всего их обнаружено порядка 180), используемых для построения полипептидов (протеиноидов), возможно, также превосходило известное сейчас стандартное число 20, повышая разнообразие в этом классе макромолекул. Все это оптимизировало условия для отбора и подбора.

Источник KingMed.info

Переход функции практически исключительного носителя биологической (генетической) информации к **ДНК** был, возможно, обусловлен ее большей в сравнении с РНК химической устойчивостью. Макромолекулярная организация ДНК в виде двойной спирали, однако, существенно усложняет процесс репликации. Хотя это не имеет эволюционно-биологического объяснения, в пользу изложенных выше представлений косвенно свидетельствует тот факт, что инициация репликации ДНК современных эукариот требует РНК-затравки (РНК-прайма).

Предполагается, что в развитии жизни на планете существовал этап, представленный группой **«околоклеточных»** или **«предклеточных» форм**, отличающихся благодаря несовершенству механизма репликации значительным разнообразием организации и метаболизма и давших начало клеточной форме жизни как таковой. На этом этапе заметную роль в формировании геномов мог играть «горизонтальный» перенос фрагментов ДНК. По мере совершенствования биоинформационных механизмов интенсивность обмена генетическим материалом между живыми формами «одного поколения» снижалась с переходом приоритетов к «вертикальному» (в ряду поколений) переносу биоинформации. В таких условиях сложились предпосылки к дивергентному развитию и, как следствие, возникновению нескольких относительно самостоятельных направлений эволюции.

Оформление структуры потока биологической информации и, таким образом, переход к собственно биологической эволюции означает появление на Земле **прокариотической клетки**. Согласно сравнительным данным о последовательности нуклеотидов в геномах микроорганизмов среди современных прокариот выделяют две парафилитические, то есть развивающиеся исторически независимо, группы (две подимперии или два царства в разных систематизациях) - *Bacteria (Eubacteria)* и *Archaea (Archaeobacteria)*. Представители этих групп не имеют общего эволюционного предка и, следовательно, не состоят в эволюционном родстве. Последнее хорошо согласуется с выделением в истории становления жизни этапа, представленного «предклеточными» формами с лабильными геномами. Именно на этом этапе могли оформиться два самостоятельных «корня» названных групп прокариот. Группа *Archaea* отличается разнообразием и представлена, в основном, экстремофилами, т.е. формами, обитающими в экстремальных условиях (температура, соленость, значения *pH*). В этой группе, однако, встречаются формы, заселяющие среды с обычными для других прокариот условиями. Недавно описаны представители группы *Archaea* (продуценты метана), предположительно вовлеченные в развитие периодонтита (*periodontitis*) у людей.

Эукариотическая клеточная форма организации жизни возникла позже. Геномы и механизмы потока информации у эукариот несут черты, указывающие на эволюционную связь, в одной своей части с группой *Bacteria*, тогда как в другой - с группой *Archaea*.

1.4.6. УЗЛОВЫЕ ПУНКТЫ ИСТОРИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ ЖИЗНИ

Переход к более эффективным механизмам энергообеспечения, основанным на использовании кислорода, не мог произойти ранее 1,9-1,7 млрд лет, когда концентрация кислорода в атмосфере Земли достигла и превысила 1% (точка Пастера). Появление в биоте планеты **эукариот** датируется временем 2,0-1,5 млрд лет назад. С их появлением открылась перспектива наращивания в клетках объема генетического материала и, следовательно, биологической информации. Одновременно кольцевая форма молекул ДНК прокариот меняется на линейную, реализуется хромосомный принцип упаковки («расфасовки») наследственного материала, обеспечивший использование биоинформации по частям, более тонкую регуляцию генетических функций, гарантирующий получение дочерними клетками в процессе митоза количественно и качественно полноценной наследственной информации.

Источник KingMed.info

Следующий перспективный шаг состоял в появлении **многоклеточных форм**, что датируется поздним докембрием (600-540 млн лет назад). Многоклеточность стала путем к преодолению физиологических пределов размеров тела (суть проблемы - соотношение объема и площади поверхности). Освоение многоклеточности потребовало решения ряда задач - регуляции численности клеток, дифференцировки и интеграции их деятельности в интересах организма, клеточной рецепции и межклеточного общения, охраны постоянства внутренней среды. С этим типом структурно-функциональной организации связана линия дальнейшего прогресса: **хордовые** (от 600 млн лет назад), **позвоночные** (495-445 млн лет назад, появляется иммунный контроль клеточного и белкового состава организма), **амниоты** (354-290 млн лет назад, оптимизируется эмбриогенез, исключительное значение приобретает легочное дыхание, полностью разделяется артериальная и венозная кровь, возникают теплокровность, активная терморегуляция, эффективный гомеостаз как путь к снижению зависимости от среды), **млекопитающие** (250-200 млн лет назад, оформление экосистем современного типа, включая антропоэкосистемы).

Представлениям, которыми жизни отводится роль способа оптимизации планетарных вещественно-энергетических процессов, не противоречит появление в ходе эволюции **человека**. «**Необычность**» последнего в сравнении с другими формами обусловлена оригинальным решением проблем как **вещественно-энергетического**, так и **информационного обеспечения** жизнедеятельности и развития. Во-первых, - это доступ к закрытым для остальной жизни источникам энергии (ископаемые виды топлива, энергия пара, ветра или падающей воды, ядерная энергия) и возможность осознаваемого контроля над ее (энергии) использованием. Во-вторых, - это расширение информационной базы за счет программы социального (культурного) наследования. Благодаря этим особенностям человечество, оставаясь в биологическом плане одним видом, заняло в «экономике» Земли место самостоятельной преобразующей геологической силы. Не имеющее аналогов свойство вида *H. sapiens* заключается в способности на протяжении всей истории существования увеличивать свою численность. В контексте геохимической гипотезы происхождения жизни появление людей означает трансформацию биогеохимических вещественно-энергетических круговоротов в **антропобиогеохимические**, а биосферы в ноосферу.

Выделение линии гоминид произошло 5-6 млн лет назад. «Архаичные формы» человека жили на Земле 300-40 тыс. лет назад. Люди современного типа появились 70-30 тыс. лет назад.

Приводимые датировки допускают корректировку в зависимости от новых находок науки.

1.5. стратегия жизни. приспособление и прогресс, согласованная эволюция, принцип экосистемы

Знакомство с обитателями (**биотой**) планеты на любом из этапов развития жизни свидетельствует о многообразии форм сосуществовании организмов, различающихся по общему плану и деталям строения, времени появления в эволюции, месту, занимаемому в структуре биоценозов и экосистем. И в наши дни мир жизни представлен, наряду с эукариотами, микроорганизмами и сине-зелеными водорослями, то есть

прокариотами. На фоне разнообразия многоклеточных эукариотических форм имеется значительное число видов одноклеточных эукариот. Варианты живых форм, возникающие когда-либо, сохраняются в биоте планеты так долго, как долго существуют, пусть на ограниченной территории, климатические, биогеографические, гидроминералогические и иные условия, удовлетворяющие жизненным запросам организмов соответствующего структурно-

функционального типа. Такое возможно благодаря закономерно реализуемой в ходе эволюции **приспособительной (адаптационной) составляющей** стратегии жизни.

Под приспособлением или адаптацией понимают структурное, функциональное, поведенческое или любое другое свойство живых форм, повышающее их шансы на **«биологический успех» (выживание + эффективная репродукция)** в соответствующем местообитании. Следует различать понятия - **приспособление** или **адаптация** (англ. - *adaptation*) и **приспособленность** или **адапти-рованность** (англ. - *fitness*). Первое используется для обозначения отдельных свойств и признаков, с помощью которых решаются конкретные жизненные задачи - например, ротовой аппарат сосущего или колющего типа насекомых, короткий пищеварительный тракт хищных и длинный со специализированными отделами - травоядных млекопитающих, термо-, хемо-, вибросенсорные системы животных. Второе понятие обозначает соответствие организма всему комплексу условий, которым характеризуется среда обитания. Ранг возникающих в процессе исторического развития адаптаций различается. Одни, гарантируя успех в конкуренции за определенный (иногда «экзотический»), например, пищевой ресурс, способствуют выживанию в узких рамках условий существования. Так, свиньи, лошадиные или человеческие аскариды выживают и развиваются, что зафиксировано в названии видов, в организме только «своего» хозяина. Есть приспособления иного ранга - общего значения. Они обеспечивают «биологический успех» в широком диапазоне условий. К таковым относятся, например, амниотическая оболочка сухопутных животных, создающая для зародыша «искусственный водоем», трубчатая нервная система высших животных в сравнении с узловой или ганглионарной членистоногих. И среди млекопитающих, и среди насекомых имеются «общественные» формы, но человек - это млекопитающее. Необходимым условием существования живых существ в данный период времени является их соответствие среде (приспособленность) благодаря возникающим адаптациям, слагающимся в определенный комплекс. Ранг адаптаций (приспособлений) проявляется в ходе последующей эволюции. В процессе исторического развития органического мира закономерно отмечается усложнение структурно-функциональной организации живых форм, что отвечает **прогрессивной составляющей** стратегии жизни. Названное направление приводит к появлению организмов, удовлетворяющих требованиям **морфофизиологического прогресса**. Это состояние, приобретаемое группой в ходе эволюции, дает возможность части ее представителей расселиться в адаптивной зоне (среде обитания) с более разнообразными и сложными, оказывающими более сильное давление на организм условиями (суша в сравнении с водной средой, трехмерное пространство в сравнении с плоскостью, социум в сравнении с природой досапиентного периода). Такое достигается благодаря появлению существенных изменений в строении, метаболизме, физиологии и, в немалой степени, в поведении организмов, расширяющих их приспособительные возможности за рамки обычных для пред-ковой группы. Из трех главных сред обитания - водная, воздушная и наземная - последняя является наиболее нагрузочной. Соответственно, выход на сушу в группе позвоночных был отмечен радикальными преобразованиями дыхательной (переход к исключительно легочному типу дыхания), сердечно-сосудистой (см. разделение венозной и артериальной крови путем изоляции малого и большого круга кровообращения, четырехкамерное сердце) систем, конечностей (тетраподизация или четвероноготь), кожных покровов (избавление их от функции дыхания), скелета головы (увеличение объема мозгового черепа).

Есть немало примеров, когда численность особей в группе от поколения к поколению растет, территория (ареал) расселения расширяется, в ней увеличивается количество таксонов более низкого ранга. Все перечисленное, однако, происходит в одной адаптивной зоне, то есть

Источник KingMed.info

комплекса условий, сходных по степени сложности и силе давления на организм. В таких случаях говорят о состоянии **биологического прогресса** группы, которое в принципе соответствует состоянию **процветания**. Его критерии: увеличение количества особей в группе; расширение ареала расселения; интенсивное видообразование в роде, увеличение родов в семействе и т.д. Из ныне существующих крупных таксонов к процветающим относятся классы насекомых и млекопитающих. Период процветания класса пресмыкающихся (динозавры) завершился 60- 70 млн лет тому назад.

Прогрессивная составляющая в эволюции не означает простого движения от «низших» к «высшим» формам. Это сложное явление, происходящее в историческом масштабе времени во всех группах живых существ,

включая и те, которые традиционно относят к низкоорганизованным. В современном понимании бактерия (в общем виде прокариотический организм) - это сложное структурно-функциональное единство. Прогрессивная составляющая эволюционного процесса не обошла «доля-дерные» клеточные формы жизни, но эволюционно обусловленные усложнения здесь относятся исключительно к клеточному уровню. Подавляющее большинство прокариот - это одноклеточные организмы. Выделяемые среди прокариот многоклеточные конструкции (миксобактерии, существующая часть жизни как одноклеточные, на период размножения образуют колонии, которые дают плодовые тела) никогда не демонстрируют той сложности, которая наблюдается среди истинно многоклеточных эукариотических форм.

Прогрессивная составляющая в эволюции одноклеточных эукариот или простейших проявилась в усложнении внутриклеточного обустройства. Среди клеток высших многоклеточных животных не найти столь сложную внутреннюю организацию, как, например, у инфузории. С другой стороны, организацию метаболизма прокариот следует оценить, в сравнении с эукариотами, как прогрессивную.

Прогрессивные изменения обнаруживаются у современных представителей крупных таксонов истинно многоклеточных животных, независимо от их ранга согласно критериям уровня морфофизиологической организации. В любом случае они касаются структурных характеристик. При этом отмечается качественное своеобразие указанных изменений у низших и высших форм. В первом случае изменяется, усложняясь, структура клеток (сравни клетки внешних покровов плоских червей и позвоночных), во втором - ткани как материал для построения функциональных систем (см. опорно-двигательная, кровеносная, нервная системы, система иммунитета теплокровных позвоночных).

Для образования высокоорганизованных форм, отвечающих требованиям морфофизиологического прогресса, необходим, как подсказывает интуиция, большой объем наследственной информации. Сравнение количества ДНК в ядрах клеток у представителей разных классов подтипа позвоночных не подтвердило это предположение. Место рекордистов Природой отдано рыбам и амфибиям: содержание ДНК в клетке рыбы - американского чешуйчатника - составляет 3540%, а в клетке амфибии - американского протей - 2780% от количества, типичного для клетки млекопитающего (**с-парадокс**, где **с** - количество ДНК в гаплоидном наборе хромосом).

Положительная корреляция с уровнем структурно-функциональной организации наблюдается, однако, для уникальных нуклеотидных последовательностей, представленных в геномах однократно (рис. 1.3). Ситуация усложняется тем, что в этой группе есть как кодирующие (смысловые), выполняющие информационно-генетическую функцию непосредственно, так и некодирующие последовательности. На долю первых в геноме человека приходится порядка 2%,

Источник KingMed.info

а на долю вторых - 49%. На настоящий момент определено количество кодирующих генов у эукариот, очевидно различающихся по уровню морфофункциональной организации - дрожжи (одноклеточные) *Saccharomyces cerevisiae*, многоклеточные - круглый червь (нематода) *Caenorhabditis elegans* и человек *Homo sapiens*: 6 тыс., 20 тыс. и 30-35 тыс., соответственно. Количество смысловых (структурных, кодирующих) генов у человека превосходит аналогичный показатель для нематоды всего в 2 раза, а число структурных генов у червя всего втрое выше, чем у дрожжевой клетки. Таким образом, у эволюционно далеких, прежде всего в понятиях прогрессивной эволюции, видов - дрожжей и круглого червя, нематоды и человека различия в количестве кодирующих генов незначительны. Вместе с тем при совпадающем порядке числа структурных генов репертуар белков (протеом) человека в сравнении с нематодой отличается гораздо большим разнообразием. Основная причина - альтернативный сплайсинг (см. п. 2.4.5.5). Если у человека альтернативный сплайсинг распространяется на пре-РНК-транскрипты 35-60% генов с образованием в среднем 2-3 дефинитивных транскриптов или и(м) РНК на ген, то у круглого червя это 22% генов со средним выходом дефинитивных транскриптов менее двух на ген. Можно заключить, что кодирующий потенциал генома в клетках организмов, эволюционно более продвинутых, выше и проявляется на уровне транскриптома и протеома. Из сопоставления данных о числе структурных генов у одноклеточного эукариота (дрожжевая клетка), у низкоорганизованного (нематода) и высокоорганизованного (человек) многоклеточных эукариот следует вывод, что, начиная с определенного этапа, решение проблемы прогресса в эволюции перешло из плоскости приобретения новых генов в плоскость использования других генетических механизмов. Кроме альтернативного сплайсинга, увеличение разнообразия белков при фиксированном числе структурных генов у млекопитающих достигается путем химической модификации ДНК (избирательное полиаденилирование, метилирование).

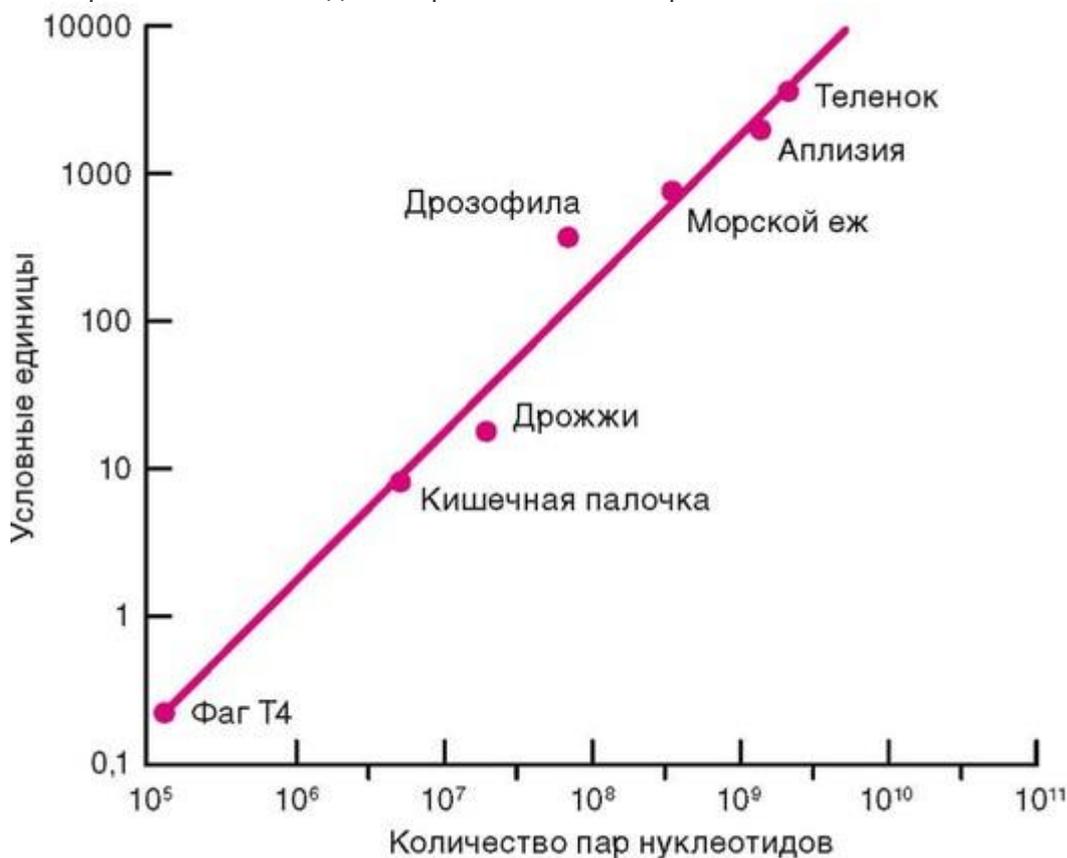


Рис. 1.3. Изменение объема уникальных нуклеотидных последовательностей ДНК в геномах в процессе прогрессивной эволюции

Источник KingMed.info

Можно думать, что чем выше уровень морфофизиологической организации, тем больше энергии потребляет живое существо. Показательно в этом плане явление стабилизации уровня удельного потребления энергии в классе млекопитающих, характеризующихся теплокровностью и выделяющихся среди амниот наиболее высоким уровнем организации. Представители названного класса (за исключением человека, для которого рассматриваемый показатель примерно в 4 раза выше), независимо от видовой принадлежности, расходуют за свою жизнь одно и то же количество энергии - 191 600 ккал/кг живого веса. Это наивысший в мире жизни уровень энергопотребления. Указанное количество энергии расходуется с разной скоростью. Животные с высокими показателями основного обмена и активным образом жизни делают это быстрее, отличаясь меньшей продолжительностью жизни.

Можно заключить, что прогрессивное направление стратегии жизни, в целом, характеризуется адекватным **биоинформационным** и **биоэнергетическим обеспечением**.

Революционизирующие эволюционные «находки», такие, как эукариотический тип клеточной организации, многоклеточность, появление хордовых, позвоночных и, наконец, млекопитающих животных, давших в своем развитии приматов, благодаря появлению на планете человека, выделяются в отдельную линию **неограниченного прогресса**.

Появление в биоте людей означает качественно новое состояние мира жизни. Переход к этому состоянию, хотя он был подготовлен ходом и «наработками» биологической эволюции, означает смену законов, которым следует развитие человечества, с биологических на социальные. Потенциал научных знаний уже сейчас позволяет человеку, правда все еще в ограниченном масштабе, вмешиваться в фундаментальные процессы жизнедеятельности, в том числе генетические (биоинформационные), меняя их ход по своему усмотрению (см. генетически модифицированные организмы). Можно думать, что в связи с активностью человека органический мир Земли вступает в новую фазу своего развития - **биотехнологический прогресс**.

Согласно главным составляющим эволюционной стратегии (адаптация, прогресс), жизнь представляет собой постоянно приспособляющийся и самоусложняющийся феномен. Такое восприятие соответствует **эволюционной парадигме** - методологии, задающей тон в биологической науке со второй половины XIX в. и сложившейся под воздействием идей Ч. Дарвина. Центральное место в эволюционных построениях традиционно отводится процессу видообразования. На второй план отходит очевидное обстоятельство - существование отдельно взятого вида, сколь бы высоким уровнем организации он не отличался, невозможно иначе как во взаимодействии с представителями других видов в составе биоценоза (экосистемы). Эволюционную парадигму следует дополнить **экологической** или **экосистемной**, а в перечень главных составляющих, характеризующих стратегию жизни как особого явления материального мира, включить еще одну - **биогеохимическую**. Согласно этой составляющей, необходимыми атрибутами жизни являются коэволюция и сосуществование организмов разного плана строения и образа жизни, играющих в вещественно-энергетических круговоротах разные, но в одинаковой мере необходимые роли (**принцип экосистемы**). В таком случае естественное объяснение получают палеонтологические находки, говорящие о том, что, начиная с момента возникновения, мир жизни существует в виде биосферы, глобальное предназначение которой состоит в стабилизации планетарного круговорота веществ и энергии. При этом адаптивная, прогрессивная и биогеохимическая стратегиче-

ские составляющие хорошо соответствуют друг другу. С одной стороны, эффективным фактором стабилизации геохимических круговоротов является интенсификация миграции химических

элементов благодаря включению в них живых форм. С другой - возникающие вследствие морфофизиологического прогресса все более высокоорганизованные существа, по определению отличаясь от эволюционных предшественников сниженными значениями энтропии, характеризуются более высоким уровнем вещественно-энергетического обмена.

1.6. иерархическая система жизни. понятие об уровнях организации

Мир жизни представляет собой **систему**, которой свойственна **иерархическая организация**. Под системой в науке понимают единство, составленное из значительного числа элементов, которые находятся в закономерных отношениях и связях друг с другом. Главные биологические категории - геном (генотип), клетка, организм, популяция, биогеоценоз, биосфера - представляют собой системы. Иерархической называется система, элементы которой расположены в порядке от высшего к низшему. Так, биосфера складывается из биоценозов (экосистем), представленных популяциями организмов разных видов, совокупность родственных видов образует род, совокупность родов - семейство и т.д. С другой стороны, популяции представлены особями, тела которых имеют клеточное строение, а жизнедеятельность клеток находится под контролем взаимодействующих друг с другом генов. Иерархический принцип организации предусматривает наличие в системе **уровней**, самостоятельных по происходящим в них процессам, но связанных общностью главной решаемой задачи. Знакомство с уровнями придает конкретность и наглядность представлениям о логике сложных природных явлений (жизнь, организм, клетка, геном, ген) и вносит порядок в изучение этих явлений.

В биологии и медицине вплоть до настоящего времени широко используется классификация **уровней организации живого объекта**, ориентированная на многоклеточный организм. Такая классификация соответствует состоянию науки о жизни в XIX - первой половине XX вв., характеризующемуся стремительным прогрессом в области методов изучения, дающих, с одной стороны, все большее разрешение (микроскоп, электронный микроскоп, индикаторная цито- и гистохимия, рентгеноструктурный анализ), а с другой, - позволяющих визуализацию анатомических и субанатомических структур на живом организме (рентгенография, ультразвуковая диагностика, томография).

В названной классификации выделяемые уровни соответствуют важнейшим, прежде всего с точки зрения функциональной морфологии и патологии, структурам или частям многоклеточного организма, которые, к тому же, являются в разных дисциплинах объектами изучения. Это объясняет, почему выделяемые уровни коррелируют как с размерами структур, так и с разрешающей способностью методов, прежде всего морфофункциональных, биохимических и биофизических, которыми широко пользуются биологи и врачи (табл. 1.2).

Таблица 1.2. Уровни организации (изучения), выделяемые в многоклеточном организме (по Э. Де Робертсу и др., 1967, с изменениями)

Размеры объекта	Объект изучения	Уровень организации (по объекту изучения)	Уровень организации (по методу изучения)
0,1 мм (100 мкм) и более	Организм, органы	Организменный, органнй	Анатомический
100-10 мкм	Ткани	Тканевой	Гистологический (светооптический)
20-0,2 мкм (200 нм)	Клетки, эукариотические и прокариотические	Клеточный	Цитологический
200-10 нм	Клеточные компоненты	Субклеточный	Ультраструктур (электронно-микроскопический)
10-1 нм	Биополимеры	Макро-молекулярный	Физико-химический

Примечание: 1 м = 10³ мм, 1 мм = 10³ мкм, 1 мкм = 10³ нм, 1 нм = 10⁹ пм.

Источник KingMed.info

Взаимопроникновение идей и методов различных областей естествознания (физики, химии, биологии), возникновение наук на стыке этих областей (биофизика, биохимия, молекулярная биология) привели к расширению классификации, вплоть до выделения молекулярного и атомарно-электронного уровней. Введение в классификацию молекулярного и атомарного уровней не изменяет главного ее принципа - ориентации на отдельно взятый организм, что не охватывает всего многообразия жизненных явлений.

Возможность исследовать фундаментальные биологические процессы на клеточном, субклеточном и молекулярном уровнях, использование их результатов для создания лечебно-диагностических технологий не является единственной чертой биологии второй половины XX в. Типичен плодотворный с точки зрения практических перспектив интерес к процессам в сообществах организмов - популяциях, экосистемах. Это также нашло отражение в современных вариантах приведенной выше классификации, в которую стали включать видовой, биогеоценотический, биосферный уровни. Такая надстройка носит формальный характер, так как не просматривается объединяющая биологическая задача, решение которой с необходимостью требовало бы интеграции происходящего на заявляемых уровнях (**суборганизменных, организменном, надорганизменных**) и, при этом, вклад каждого из них был бы специфичен и не дублировался.

Сформулированным выше условиям отвечает классификация **уровней организации жизни как особого природного явления**, в основу которой положена идея об **объединяющей роли эволюционного процесса**.

В этой классификации обозначены молекулярно-генетический, клеточный, организменный (онтогенетический), популяционно-видовой, биогеоценотический (экосистемный) уровни (Н.В. Тимофеев-Ресовский, 1958-1961). Ее особенность заключается в том, что отдельные уровни определяются на основе выделения для каждого из них только ему присущих элементарной единицы и элементарного явления. **Элементарная единица** - это структура (объект), закономерные изменения которой, обозначаемые как **элементарное явление**, обуславливают специфический для соответствующего уровня вклад в процесс эволюции, т.е. в решение глобальной биологической задачи сохранения и развития жизни. Соответствие выделяемых уровней узловым моментам эволюционного процесса, вне которого не стоит ни одно живое существо, делает их неформальными, распространяющимися на всю область жизни - от доклеточных форм и прокариот до млекопитающих и человека.

Элементарной единицей на **молекулярно-генетическом уровне** служит **ген** - фрагмент молекулы нуклеиновой кислоты (преимущественно, ДНК; генетический материал ряда вирусов представлен РНК), в котором записан определенный в качественном и количественном отношении объем генетической (биологической) информации. Элементарное явление заключается в феномене **конвариантной редупликации** гена, что означает его самовоспроизведение с ограниченным,

но закономерно случающимся искажением закодированной в гене информации. Путем репликации ДНК происходит копирование (тиражирование) генетической информации, чем обеспечивается сохранность и преемственность, иными словами, консерватизм свойств организмов определенного вида в ряду поколений. Время от времени в силу ограниченной устойчивости к внешним воздействиям (тепловые колебания, ультрафиолетовое и ионизирующие излучения, химически агрессивные свободные радикалы) или вследствие ошибок синтеза, рекомбинации или репарации структура молекул ДНК нарушается, вследствие чего генетическая информация изменяется. В последующих репликациях ДНК нарушения

Источник KingMed.info

воспроизводятся в молекулах-копиях и наследуются клетками и организмами следующих поколений, чем обусловлена лабильность свойств живых форм. Указанные нарушения, известные в генетике как генные (истинные) мутации, возникают и тиражируются закономерно, что делает процесс репликации ДНК конвариантным, т.е. с изменениями. Благодаря феномену конвариантной редупликации на молекулярно-генетическом уровне обеспечиваются два непереносимых условия эволюции - **наследственность** и **мутационная** (по Ч. Дарвину, неопределенная) **изменчивость**.

Биологическая информация ДНК (геном, генотип) не участвует в процессах жизнедеятельности непосредственно, но только будучи перенесенной на белок («первичный» фенотип). Учитывая, что естественный отбор происходит по фенотипам особей, такой перенос информации является необходимым условием эволюции. Он осуществляется благодаря механизму матричного синтеза, в котором ДНК выполняет функцию матрицы, но уже для образования молекулы-посредника м(и)РНК, контролирующей образование белка. Отмеченное дает основание рассматривать **матричный синтез информационных макромолекул** (ДНК, РНК, белки) как принципиальный момент в ряду элементарных явлений молекулярно-генетического уровня.

В реализации генетической информации ДНК в конкретные проявления жизнедеятельности синтез белков представляет собой лишь первый шаг. Он, также как и репликация ДНК, требует для своего осуществления надлежащего морфологического, вещественного (субстратного) и энергетического обеспечения. Структурной, функциональной и генетической основой процессов жизнедеятельности является **клетка**, представляющая собой элементарную единицу **клеточного уровня**. Для выполнения своих функций клеткой простейшего микроорганизма микоплазмы требуется порядка 100, а клеткой млекопитающего - при-

мерно 10 тыс. биохимических превращений. Несмотря на различия в объеме выполняемой химической работы (2 порядка), в основе жизнедеятельности клеток обоих типов лежит **согласованное по времени и объему сопряженное функционирование потоков информации, энергии и веществ**. В таком сопряжении и состоит элементарное явление клеточного уровня. Клетка представляет собой биологическую структуру в одно и то же время необходимую и достаточную, чтобы жизнь существовала и развивалась во всей ее полноте. В силу этого элементарное явление клеточного уровня служит биоинформационной, энергетической и вещественной предпосылкой процессов жизнедеятельности на всех других уровнях организации. Клеточный уровень не назывался Н.В. Тимофеевым-Ресовским и выделяется нами, исходя из дидактических соображений.

Элементарной единицей **организменного**, более точно, **онтогенетического уровня** является **особь**, рассматриваемая во времени, то есть как ее (особи) онтогенез. **Закономерные видоспецифичные изменения в продуктивную фазу индивидуального развития** составляют элементарное явление рассматриваемого уровня. Эти изменения обеспечивают рост организма, дифференциацию его частей и одновременно интеграцию развития в целостный процесс, морфофунк-циональную специализацию клеток, тканей и органов. Благодаря онтогенезу, происходящему в определенных условиях среды, наследственная информация воплощается в структуры и процессы. На основе генотипа формируется фенотип особи.

Элементарной единицей **популяционно-видового уровня** служит **популяция** - совокупность особей одного вида. Объединение особей в популяцию происходит благодаря общности гено(аллело)фонда, используемого в процессе полового размножения для создания генотипов особей следующего поколения. Действие на гено(аллело)фонд популяции так называемых элементарных эволюционных факторов (главные из них - мутационный процесс, колебания

Источник KingMed.info

численности особей в популяции, миграции, генетико-автоматические процессы, естественный отбор, изоляция) приводит к **эволюционно значимым изменениям гено(аллело) фонда** в ряду поколений, которые соответствуют элементарному явлению на этом уровне.

Организмы одного вида населяют территорию (ареал) с известными абиотическими параметрами (климат, химизм почв и вод, высота над уровнем моря и т.д.) и взаимодействуют с организмами своего и других видов. В процессе совместного исторического развития (коэволюция) на данной территории представителей разных систематических групп образуются устойчивые во времени, но динамичные сообщества - **биогеоценозы (экосистемы)**, которые служат элементарной единицей **биогеоценотического (экосистемного) уровня**. Элементарное явление на рассматриваемом уровне представлено **вещественно-энергетическими круговоротами и потоками**. Ведущая роль в них принадлежит живым организмам. Биогеоценозы, различаясь по видовому составу и характеристикам абиотической части, представляют собой открытые в вещественном и энергетическом плане системы. В своей совокупности они образуют на планете единый комплекс - область распространения жизни - **биосферу**.

Рассмотренная система включает уровни, отражающие важнейшие биологические явления, вне которых невозможна эволюция и, следовательно, само существование жизни. Хотя элементарные единицы и явления выделяемых уровней различны, все они тесно взаимосвязаны, решая свою специфическую задачу в рамках единого эволюционного процесса.

С конвариантной редупликацией (молекулярно-генетический уровень) связаны элементарные основы этого процесса в виде наследственности, мутационной изменчивости, матричного синтеза. Особая роль клеточного уровня состоит в энергетическом, вещественном и информационном обеспечении происходящего на других уровнях. На онтогенетическом уровне биологическая информация генотипа преобразуется в комплекс фенотипических признаков организма. Возникающий фенотип становится объектом действия естественного отбора. На популяционно-видовом уровне через механизм отбора и избирательной репродукции организмов определяется эволюционная ценность изменений, относящихся по своему происхождению к молекулярно-генетическому, клеточному или онтогенетическому уровню. При этом проявляется иерархический характер межуровневых отношений. К примеру, мутационные изменения ДНК в первую очередь сказываются на функциональных параметрах клеток, далее через клеточные механизмы онтогенеза оказывают влияние на ход индивидуального развития, структурно-функциональный итог которого в виде показателей жизнеспособности и репродуктивного потенциала организма проявляется на уровне популяции. Специфическая роль биогеоценотического уровня состоит в образовании сообществ организмов, приспособленных к совместному проживанию в известной среде обитания и различающихся по своей роли в природных вещественно-энергетических круговоротах.

На этом уровне осуществляется планетарная геохимическая функция жизни.

Уровни, о которых идет речь, отражают структуру эволюционного процесса, одним из результатов которого является человек. Из этого следует, что типичные для выделяемых уровней элементарные единицы и явления характеризуют и людей, правда, с особенностями в силу социальной сущности последних. В пользу сказанного свидетельствует то, что факторы здоровья и патологии человека распределены по всем уровням. Воспроизводство из поколения в поколение людей с достаточным генетическим здоровьем обеспечивается элементарными явлениями молекулярно-генетического уровня - тиражированием и передачей от родителей потомству эволюционно выверенной благоприятной биологической информации, тогда как

Источник KingMed.info

конвариантный характер редупликации (мутации) несет в себе перспективы наследственной патологии. Благодаря способности клеток к реализации биоинформации в конкретных процессах жизнедеятельности и в организации требуемого взаимодействия организма и среды, устанавливается уровень жизнеспособности, отвечающий критериям здоровья. Нарушение нормального хода внутриклеточных потоков информации, энергии и веществ, приводит к патологии - клеточным дистрофиям, снижению функционального потенциала, малигнизации. Зрелый в структурно-функциональном отношении, жизнеспособный, здоровый организм возникает как результат нормального индивидуального развития, тогда как нарушения последнего приводят к уродствам или снижению общей жизнеспособности. Говоря о вкладе в здоровье онтогенетического уровня, специальное внимание следует уделить старению, которое уже само по себе предусматривает недужность. Здоровье потомства зависит от особенностей гено(аллело)фонда родительской популяции, учитывая наличие в нем неблагоприятных в их фенотипическом проявлении аллелей, составляющих генетический груз. Свою лепту в здоровье на популяционном уровне вносит исторически сложившаяся в популяциях людей система брачных отношений. Первостепенную роль в достижении желаемого уровня здоровья современное здравоохранение отводит условиям и образу жизни, то есть факторам, характеризующим биогеоценотический уровень. К этому уровню относится большинство из идентифицированных на настоящий момент факторов риска утраты здоровья.

1.7. проявление главных свойств жизни

по уровням ее организации

В пункте 1.3 рассмотрены свойства жизни как особого природного явления. Полезно вернуться к этой теме с учетом представлений о многоуровневой организации жизни.

Такие свойства, как **дискретность, структурированность, про-тивоэнтропийная направленность, вещественно-энергетическая открытость** в равной мере присущи клеткам, особям, популяциям и биоценозам (экосистемам), т.е. проявляют себя на всех уровнях.

Наличие **генотипа** и **фенотипа** формально характеризует элементарные единицы клеточного и организменного (онтогенетического) уровней. Однако и это свойство относится к жизни в целом, так как генотипы как совокупности генов (нуклеотидных последовательностей ДНК) особей на уровне популяций объединяются в гено(аллело)фонды, которые являются источником генов для особей следующего поколения.

Биоценозы представляют собой не случайные ассоциации популяций особей разных видов, а исторически складывающиеся сообщества взаимоприспособленных организмов разного типа структурно-функциональной организации и разного места в «экономике» природы. Взаимоприспособленность как следствие коэволюции живого населения определенной территории закреплена наследственно в гено(аллело) фондах соответствующих популяций. Совокупность таких гено(аллело) фондов может рассматриваться в качестве общей генетической предпосылки существования биоценоза. Биологическая информация генотипов соответствует потенциальной, а фенотипов - актуализированной, действующей информации. Те же соотношения распространяются на биологическую информацию гено(аллело)фондов популяций и экосистем, с одной стороны, и информацию, актуализированную в фенотипах членов популяции или биоценоза, - с другой.

Непосредственными носителями генетической (биологической) информации являются **нуклеиновые кислоты** и **белки**, составляющие элементарную макромолекулярную основу, соответственно, генотипа и фенотипа. С учетом рассуждений, приведенных выше, наличие информационных макромолекул с полным основанием рассматривается в качестве

Источник KingMed.info

необходимой характеристики не только клетки или организма, но распространяется на всю область жизни.

Способность к росту связывают с индивидуальным развитием организма. Но закономерные циклы развития, включающие изменения

размеров, объемов или распространенности (например, по территории), характеризуют элементарные единицы всех уровней. Репликация ДНК, образование четвертичных структур белков путем объединения полипептидов в функциональный комплекс, рост клетки между делениями, изменение численности особей в популяции, сукцессия биогеоценоза (экосистемы) - вот примеры приложимости рассматриваемого свойства ко всей области жизни.

Результатом временной динамики элементарных единиц разных уровней организации жизни нередко бывает увеличение их количества, т.е. размножение в буквальном смысле. Репликация приводит к увеличению числа биспиралей ДНК, митотические (пролиферативные) циклы - количества клеток, размножение на популяционном уровне - числа особей. Вместе с тем **размножение** в биологическом понимании - это обязательно самовоспроизведение.

Универсальный биологический принцип **воспроизведения «себе подобного»** лежит в основе сохранения во времени элементарных структур всех уровней и, следовательно, тех элементарных явлений, которые с ними связаны. На молекулярно-генетическом уровне - это двойная спираль ДНК, клеточном - клетка, онтогенетическом - особь, популяционно-видовом - популяция с присущим ей гено(аллело)фондом, возрастной и половой структурой, биогеоценозическом - определенный видовой состав, включающий «своих» продуцентов, консументов и деструкторов. Во всех приведенных примерах самовоспроизведение сопряжено с определенной степенью изменчивости.

Упорядоченность возникает на основе информации, которая, собственно, и воспроизводится в соответствующей структуре или процессе. Первичная («потенциальная») биологическая информация записана в молекулах ДНК. Расчеты показывают, что ее одной недостаточно для кодирования всего многообразия живых структур и комплексов от белковых молекул до биоценозов (экосистем). Дополнительная информация появляется вследствие того, что живые объекты относятся к категории **самоорганизующихся, диссипативных систем**. Важная черта последних состоит в их целостности, которая проявляется в том, что поведение и судьба элементов, строящих систему, в большей степени определяется ее структурой и в меньшей - свойствами самих элементов. В своем развитии такие системы проходят ряд устойчивых состояний, разделенных периодами неустойчивости (**критические периоды**), с которыми связано приобретение дополнительной информации. В каждом из таких периодов, отличающихся повышенной чувствительностью

к действию внешних агентов, происходит выбор варианта дальнейшего развития. **Эквифинальность**, т.е. закономерное достижение системой в итоге развития требуемого результата, определяется внутренне присущими ей «правилами», в соответствии с которыми осуществляются многократные последовательные взаимодействия и изменения элементов разных уровней. Примером поведения самоорганизующейся системы является упорядоченная динамика структур и сменяемость стадий в эмбриональном развитии.

Воссоздание любой структуры сопряжено с выполнением работы. Принцип **адекватного энергообеспечения** биологических процессов на основе **универсального переносчика энергии** (высокоэнергетический фосфат, АТФ) проявляется на всех уровнях организации жизни.

1.8. проявление общебиологических закономерностей у людей. биосоциальная природа человека

Источник KingMed.info

Уникальное место людей в биоте планеты обусловлено их особым качеством - **социальностью**. Уже не биологические механизмы, а общественное устройство, производство, труд, интеллект, наука обеспечивают выживание, всесветное и даже космическое проникновение, благополучие человечества. Социальность не противопоставляет людей остальной живой природе. Это качество означает лишь то, что благодаря ему историческое развитие вида *Homo sapiens* подчиняется не биологическим, а социальным законам.

Человек остается включенным в систему мира жизни. Этот мир складывался и развивался на протяжении большей части истории планеты независимо от человеческого фактора, более того, на определенном этапе своего развития он этот фактор породил. Человечество составляет неотъемлемый компонент биосферы. Благодаря животному происхождению жизнедеятельность человеческого организма основывается на фундаментальных биологических механизмах, которые составляют его **биологическое «наследство»**.

Развитие жизни в одной из ее ветвей привело к появлению примерно 40 тыс. лет назад современного человека, объединяющего в себе биологическое, социальное и духовное. Характер отношений социального и биологического в человеке нельзя представить как их сочетание в некоторой пропорции или подчинение одного другому. Особенностью человеческого биологического является то, что оно проявляется в условиях

действия законов общественного развития (т.е. социальных). Биологические процессы с необходимостью совершаются в организме человека. Им принадлежит фундаментальная роль в определении важнейших сторон жизнеобеспечения и развития. Вместе с тем эти процессы в популяциях людей не дают закономерного результата, обязательного для остального мира живых существ.

Гено(аллело)фонды популяций людей и в настоящее время изменяются в результате мутаций, комбинативной изменчивости, неслучайного подбора брачных пар, дрейфа генов, изоляции, стабилизирующей формы естественного отбора. Вместе с тем в условиях социального бытия естественный отбор утратил свою главную биологическую функцию - видообразование. В таком случае исключается возможность завершеного эволюционного цикла путем достижения закономерного биологического результата - появление новых видов рода *Homo*. Сохраняющееся же действие элементарных эволюционных факторов оборачивается в отношении человеческих популяций необычными с эволюционно-биологической точки зрения последствиями, например не имеющим по масштабам равных среди других видов организмов генетическим и, следовательно, фенотипическим разнообразием.

1.9. современная система мира живых существ

На любом из этапов своей истории мир живых существ характеризуется многообразием образующих его организмов. Это многообразие обусловлено тем, что в процессе исторического развития появляются разные, в одинаковой степени обеспечивающие приспособление к условиям окружающей среды типы структурно-функциональной организации.

Ч. Дарвин в «Происхождение видов» (1859) указывал на факт, не находящий объяснения с позиций предложенной им же эволюционной теории. В известных на то время науке кембрийских отложениях (возраст 540-520 млн лет) палеонтологи обнаруживали ископаемых представителей почти всех крупных подразделений современного животного царства, тогда как в докембрийских отложениях ископаемых остатков не находили вовсе. Возникал вопрос, как могла появиться кембрийская биота в отсутствие предковых форм, т.е. в отсутствие доказательств предшествующей эволюции. С течением лет палеонтологический «пробел» заполнялся.

Источник KingMed.info

Выяснилось, что к концу протерозойской эры (2500-540 млн лет) на планете уже существовали представители всех современных типов животного мира (рис. 1.4), а узловые моменты прогрессивной эволюции животных (эукариотический формат клеточной организации, многоклеточность, двусторонняя симметрия тела, три зародышевых листка, вторичная полость тела или целом, регуляторный тип эмбрионального развития, внутренний скелет) были пройдены.

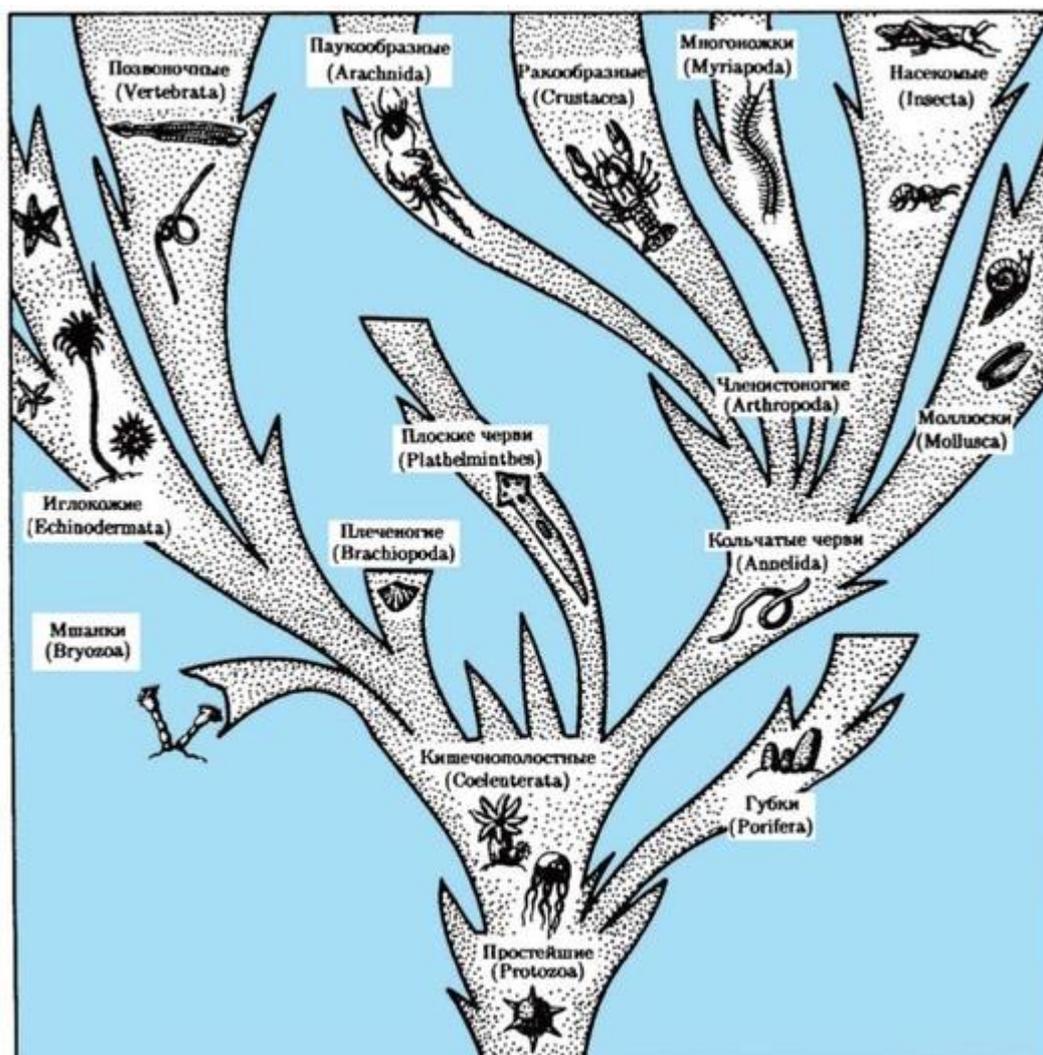


Рис. 1.4. Основные типы животного царства и их филогенетические отношения

Согласно распространенной классификации, в современном органическом мире выделяют **империю неклеточных или доклеточных форм**, к которой относят вирусы и фаги (вирусы, паразитирующие в бактериальных клетках) и **империю клеточных форм**. Филогенетические отношения между этими формами окончательно не выяснены. Возможно, что вирусы возникли как облигатные (обязательные) паразиты

от более организованных живых существ за счет упрощения в процессе адаптации к паразитизму. Нельзя исключить возможность их пребывания на планете как фрагментов нуклеиновых кислот еще на добиологическом (доклеточном) этапе исторического развития и приобретения ими статуса живого организма позже, при «освоении» в качестве среды жизни такой экологической ниши, как бактериальная, растительная или животная клетка.

Империю клеточных форм представлена двумя **подимпериями (царства, в некоторых систематиках) - прокариот, или доядерных организмов**, в которую включены бактерии и

Источник KingMed.info

цианобактерии (сине-зеленые водоросли), и **эукариот**, или **ядерных организмов** (термины про- и эукариоты предложены Э. Шаттоном в 1925 г.). Общепризнанной является гипотеза об эволюционном происхождении вторых от первых. Подимперия эукариот делится на царства **растений, животных и грибов**.

Распределение организмов по названным царствам согласуется с тремя специализированными способами питания, выявившимися на стадии древних одноклеточных эукариот. Одна группа организмов добывала пищу путем активного ее поиска и захвата (**голозойный** способ), вторая получала для своей жизнедеятельности вещества простого химического строения за счет их всасывания из окружающей среды (**голофитный** способ), третья потребляла продукты разложения органических веществ (**сапрофитный** способ). В ходе эволюции на основе голозойного способа питания возникло царство животных, главными чертами которых являются способность к перемещению и активный захват пищи. Эволюция на основе голофитного способа была связана с приобретением полисахаридной **целлюлозной** оболочки и возможности всасывать из среды воду, углекислый газ и неорганические ионы, что сочетается с важнейшей с позиций существования земной жизни в целом чертой - фотосинтезом. Указанный путь дал царство растений с присущим им оседлым образом жизни. Питающиеся сапрофитным способом организмы также ведут неподвижный образ жизни. В процессе эволюции они приобрели оболочку, которая включает полисахарид **хитин**. Благодаря этой оболочке организмы, представляющие царство грибов, способны всасывать высокомолекулярные вещества. В царствах животных, растений и грибов выделяют **подцарства одноклеточных, или простейших, и многоклеточных организмов, а также группы низших и высших**.

В представлениях ученых разных поколений и разных направлений биологической науки принципиальная структура системы живой при-

роды воспринимается неоднозначно. В первой половине XX в. грибы и бактерии относили к царству растений. В настоящее время встречаются систематики, в которых категории империй и подимперий упразднены, а все живые обитатели Земли распределяются по пяти царствам - вирусы, прокариоты, животные, растения, грибы. При этом некоторые биологи находят настолько существенные различия между грибами и лишайниками, что склонны выделить последние в шестое царство. Причина кроется в объективных трудностях, прежде всего в выборе критериев и подходов, с которыми сталкивается исследователь, пытающийся упорядочить представления о мире жизни.

Этими же трудностями обусловлен тот факт, что высшим таксоном царства животных является **тип**, тогда как царства микроорганизмов и растений делят на **подцарства**, в которых затем в качестве высших таксонов выделяют **группы** и **отделы**. В царстве грибов таксонам высшего ранга соответствуют **отделы**.

В практической систематике живых существ (в частности, животных и растений) основной единицей классификации является **вид**. Исключительность положения вида среди других классификационных единиц определяется тем, что он представляет собой группировку, в которой особи существуют реально, то есть физически - рождаются, развиваются и, достигая половой зрелости, участвуют в репродуктивном процессе, исполняя главную биологическую функцию. Близкородственные виды образуют **роды**, которые, в свою очередь, объединяются в **семейства**. Близкие семейства собраны в **отряды**, совокупность которых образует **классы**, которые формируют **типы** или **порядки** (в царствах растений и грибов

Источник KingMed.info

- **отделы**). Под близостью таксонов надвидового ранга понимается степень их эволюционного родства.

В классической биологии для определения степени эволюционного родства организмов, относящихся к разным таксонам, применялся **метод тройного параллелизма**. Он заключается в сравнении морфо-функциональных показателей взрослых представителей сравниваемых групп, их эмбрионального развития, поиске переходных ископаемых форм. Современная биология подходит к решению этой задачи также путем изучения различий в нуклеотидных последовательностях ДНК и аминокислотных последовательностях белков (**молекулярные часы**). За исключением деталей, картины эволюции, создаваемые на основе применения классического и молекулярно-биологического подходов, совпадают (рис. 1.5).

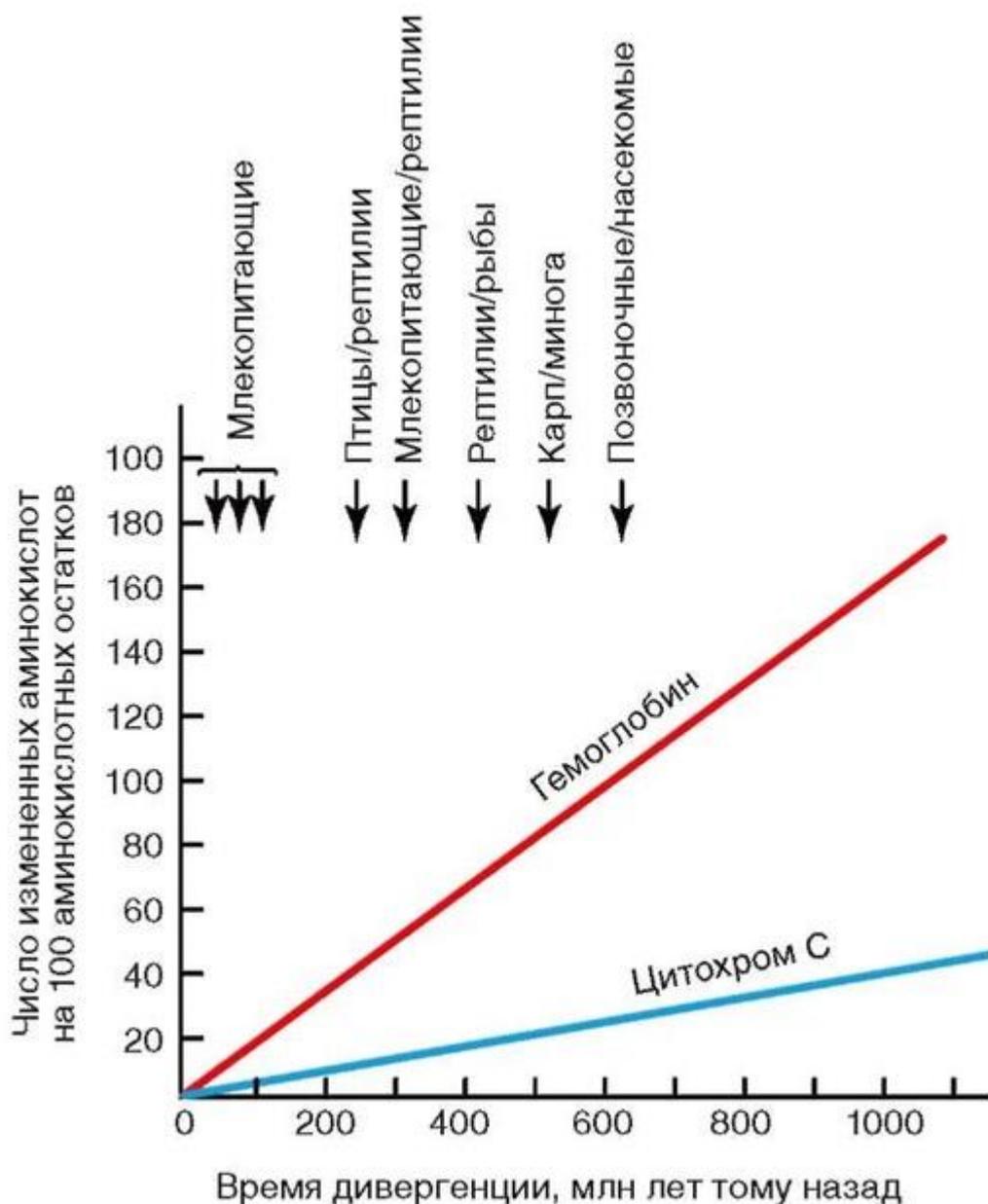


Рис. 1.5. Время дивергенции различных групп животных согласно данным молекулярно-биологических исследований

В современном органическом мире насчитывают порядка 2,5 млн видов организмов, среди которых 350-500 тыс. видов растений, не менее 100 тыс. видов грибов, более 1 млн видов насекомых, примерно 40 тыс. видов простейших (одноклеточных). Есть мнение, что называемая

Источник KingMed.info

цифра (2,5 млн) занижена. Ожидается ее рост, в частности, за счет обнаружения новых видов, прежде всего, насекомых.

Несмотря на впечатляющие названия (империя, царство), видовой состав группы может быть скромным. Выделяемое в царстве (подим-перии) прокариот подцарство археобактерий (*Archaea*), например, насчитывает несколько более 40 видов. Количество видов организмов, населяющих Землю в настоящее время, составляет не более 10% от

общего числа видов, появившихся на планете за время существования жизни. Что касается наиболее крупных таксонов, то в царстве животных палеонтологами и зоологами идентифицируются представители порядка 35 типов.

Среди событий, характеризующих развитие мира жизни и его современное состояние, два заслуживают особого внимания, коль скоро именно они соответствовали узловым точкам прогрессивного направления эволюции - возникновение клеток эукариотического типа и многоклеточных живых существ. При этом появление клеток с оформленным ядром (эукариотность) расценивается как более фундаментальное событие, нежели разделение живых существ на растения и животных.

1.10. эукариотическая клетка: шанс прогрессивной эволюции

В настоящее время популярна **симбиотическая гипотеза** происхождения эукариотической клетки. Согласно этой гипотезе (рис. 1.6, I), базовым элементом или **клеткой-хозяином** в эволюции клеточной организации эукариотического типа стал **факультативно анаэробный прокариот-гетеротроф**, способный к амeboидному движению. Переход к аэробному дыханию связан с появлением в клетке **митохондрий**, которые возникли вследствие изменений симбионтов - **аэробных бактерий-гетеротрофов**. Сходное происхождение предполагают для **жгутиков**, предками которых послужили **симбионты-бактерии, имевшие жгутик** и напоминавшие современных спирохет. Приобретение клеткой жгутиков могло иметь важное следствие общего значения. Речь идет о **центриолях** - структурах, играющих важную роль в митозе, и их эволюции от базальных телец жгутиков прокариот. Отметим, однако, что центриоли отсутствуют в клетках растений, которые, тем не менее, делятся митозом. Способность клеток зеленых растений к фотосинтезу связана с присутствием в них **хлоропластов**. Считают, что симбионтами клетки-хозяина, давшими начало хлоропластам, послужили **цианобактерии (сине-зеленые водоросли)**.

Доводом в пользу симбиотического происхождения митохондрий и хлоропластов является то, что эти органеллы имеют собственную ДНК. Кроме того, ДНК митохондрий и хлоропластов - это не линейные, а кольцевые молекулы. В генах названных органелл не обнаруже-

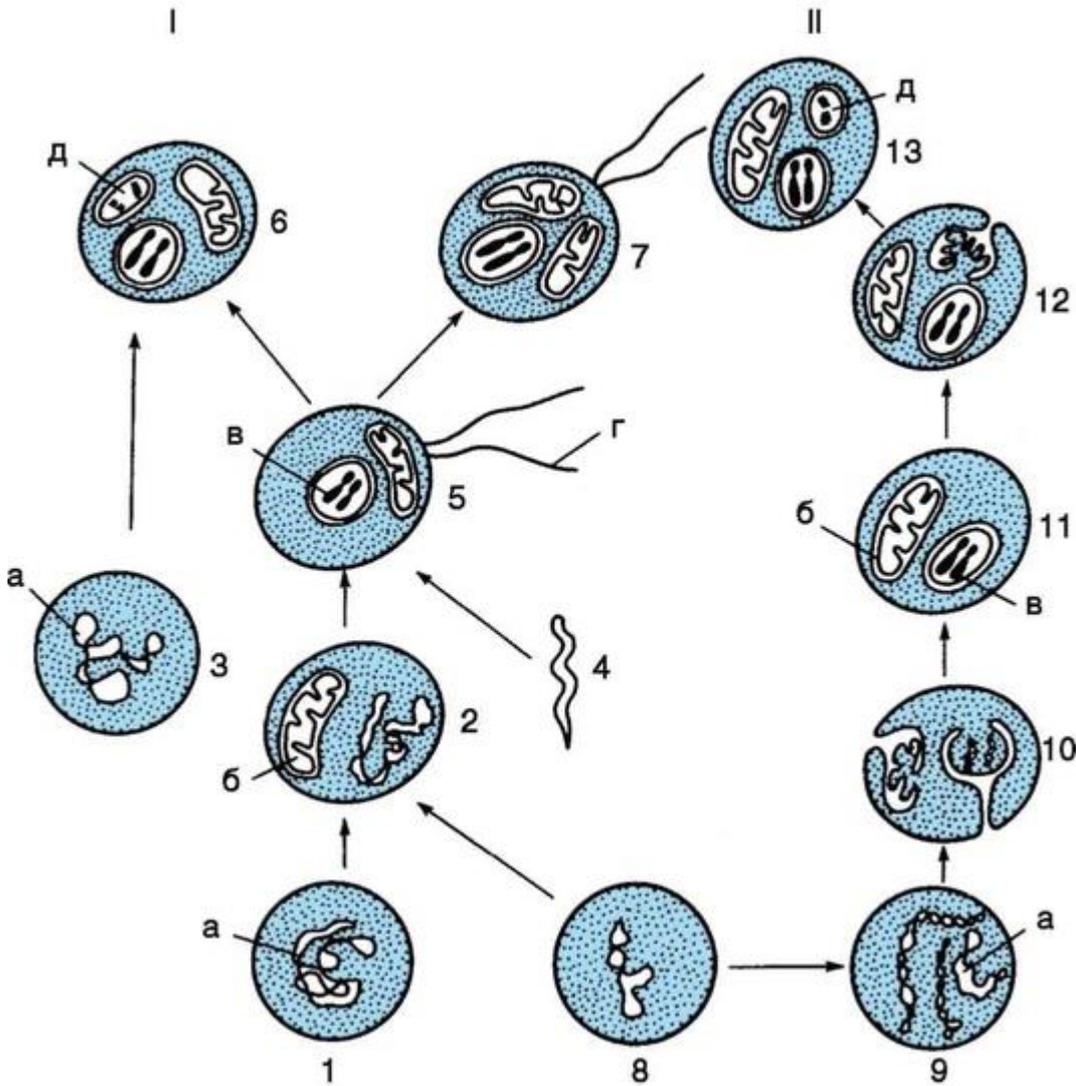


Рис. 1.6. Происхождение эукариотической клетки согласно симбиотической (I) и инвагинационной (II) гипотезам: 1 - анаэробный прокариот (клетка-хозяин); 2 - прокариоты, имеющие митохондрии; 3 - сине-зеленая водоросль (презумптивный хлоропласт); 4 - спирохетообразная бактерия (презумптивный жгутик); 5 - примитивный эукариот со жгутиком; 6 - растительная клетка; 7 - животная клетка со жгутиком; 8 - аэробный прокариот (презумптивная митохондрия); 9 - аэробный прокариот (клетка-родоначальница согласно гипотезе II); 10 - инвагинации клеточной оболочки, давшие ядро и митохондрии; 11 - примитивный эукариот; 12 - впячивание клеточной оболочки, давшее хлоропласт; 13 - растительная клетка; а-ДНК прокариотической клетки; б - митохондрия; в - ядро эукариотической клетки; г - жгутик; д - хлоропласт

но интронов. Вместе с тем бациллин и тубулин, из которых построены жгутики современных, соответственно, прокариот и эукариот, - это различные белки. У бактерий не найдено структур со свойственной жгутикам, ресничкам, базальным тельцам и центриолям эукариотических клеток комбинацией микротрубочек «9 + 2» или «9 + 0».

Есть свидетельства высокой автономности органелл предположительно симбиотического происхождения, граничащей с их самодостаточностью. Выделенные из клеток хлоропласты, например, способны существовать и размножаться в курином яйце.

Внутриклеточные мембраны гладкой и шероховатой эндоплазматической сети, пластинчатого комплекса Гольджи, пузырьков и вакуолей сторонники симбиотической гипотезы рассматривают

Источник KingMed.info

как производные наружной мембраны ядерной оболочки, которая действительно способна образовывать выпячивания. Центральным, но трудным является вопрос о происхождении **ядра**. В принципе оно также могло образоваться из **симбионта-прокариота**. Увеличение количества ядерной ДНК (у человека - несколько более 3 млрд п.н.), на порядки превышающее ее количество в митохондриях (у человека - 16 569 п.н.) или у бактерии (кишечная палочка, около 4 млн п.н.), происходило постепенно. Первоначально - путем перемещения групп генов из геномов симбионтов, а затем путем полиплоидизации (скачкообразный рост ДНК, пропорциональный гаплоидному количеству) или последовательных дупликаций нуклеотидных последовательностей (относительно плавный рост). Определенная роль в увеличении количества наследственного материала эукариот принадлежит горизонтальному переносу фрагментов ДНК. Сравнение секвенированных геномов представителей разных групп организмов свидетельствуют о том, что сотни генов человека унаследованы от бактерий, а десятки генов ведут свое происхождение от так называемых мигрирующих генетических элементов («прыгающих» генов) - еще одного участника горизонтального переноса генетической информации. Предложена альтернативная рассмотренной **инвагинационно-ционная гипотеза**, в соответствии с которой предковой формой эукариотической клетки был **аэробный прокариот** (рис. 1.6, II). Внутри такой клетки-хозяина одновременно находилось несколько геномов. Последние, возможно, образовались вследствие репликации исходной ДНК, не сопровождающейся цитотомией, и первоначально прикреплявшейся к клеточной оболочке. Описаны микоплазмы, у которых единственное «кольцо» ДНК прикреплено к особой бляшке (полярный диск). Этот диск способен делиться, причем дочерние диски способны «расползаться» по клеточной мембране без деления клетки. Среди современных бактерий известны формы с двумя, тремя и большим числом кольцевых молекул ДНК. На следующем этапе возникли органеллы, имеющие собственную ДНК, а также ядро путем выпячивания и отшнуровывания участков клеточной оболочки, представленной у микоплазм только цитоплазматической мембраной (безоболочечные «мягкокожие» формы, или молликуты). Вследствие такого отшнуровывания произошло разделение мембран, с одной стороны, отграничивающих ДНК-содержащие внутриклеточные структуры, а с другой, - выполняющих разграничительную, защитную и другие функции. В процессе дальнейшей эволюции произошло усложнение ядерного генома и упрощение геномов органелл за счет несимметричного перемещения нуклеотидных последовательностей, возможно, с использованием механизма мобильных генетических элементов. Появилась система внутриклеточных мембран. Инвагинационная гипотеза хорошо объясняет наличие в оболочках ядра, митохондрии и хлоропласта двух мембран. Однако она не дает ответа на вопрос, почему биосинтез белка в хлоропластах и митохондриях в существенных деталях соответствует таковому современных бактериальных клеток (формилметионин в качестве иницилирующей аминокислоты, 22 разновидности транспортных РНК (тРНК), меньшие размеры рибосом), отличаясь по названным признакам от биосинтеза белка в цитоплазме клеток эукариотического типа. Последнее формально вполне согласуется с представлениями о симбиотическом происхождении ДНК-содержащих органелл. Вместе с тем показано, что ни один белок митохондрии, включая белки мембран, не образуется без участия ядерного генома, а каждый фермент собирается из собственных и цитоплазматических по происхождению субъединиц. Есть различия в строении митохондриального генома простейших, грибов, растений и высших животных. Геном митохондрий растений, например, длиннее генома грибов и, особенно, генома животных, а ДНК митохондрий многих простейших не замкнута в кольцо. Для геномов митохондрий грибов и жгутиковых найдены различия в генетическом коде.

Источник KingMed.info

Когда, сколько раз и как конкретно возникал эукариотический тип клеточной организации, неизвестно. Нельзя исключить, что существующие варианты эукариотических клеток - грибная, растительная, животная - произошли в эволюции независимо, будучи собранными из не всегда совпадающих прокариотических генетических структур или блоков.

История показала, что эволюционные возможности эукариотических клеток несравнимо выше, чем прокариотических. Ведущая роль здесь принадлежит **ядерному геному эукариот**, который во много раз превосходит по объему геном прокариот. Если сравниваемые геномы уподобить печатному тексту, то геном, например, кишечной палочки соответствовал бы книжке, имеющей 300 страниц, а геном человека - изданию из 200 томов по 1000 страниц каждый. Важные отличия заключаются в диплоидности эукариотических клеток благодаря наличию в ядрах двух комплектов генов (аллелей), в повторении (амплификации) некоторых генов, а также в обилии нуклеотидных последовательностей ДНК, не выполняющих непосредственно кодирующей функции. С одной стороны, диплоидность расширяет масштабы мутационной изменчивости без угрозы катастрофического снижения жизнеспособности, так как благодаря ей из-под действия естественного отбора выводятся укрываемые в гетерозиготах «неблагоприятные» рецессивные аллели. Эволюционно значимым следствием этого является образование резерва наследственной изменчивости, чем создается состояние генотипической преадаптации («приспособление впрок») и что интенсифицирует процесс исторического развития живых форм. Наличие в геноме повторяющихся участков открывает перспективу их дивергенции в разных функционально-генетических направлениях - см. семейства α (альфа)-и β (бета)-глобинов. Особенностью эукариотического генома в сравнении с прокариотическим является то, что у большинства генов кодирующие участки (экзоны) разделены некодирующими (интроны). Этим создаются условия для образования эукариотической клеткой за счет различных комбинаций экзонов (точнее, их транскриптов при осуществлении процессинга и сплайсинга пре-РНК транскрипта) большего числа белков, чем есть реальных структурных (смысловых, кодирующих) генов. Последнее при формально одной и той же генотипической базе повышает уровень фенотипического разнообразия, то есть создает больше возможностей для естественного отбора.

Взросший при переходе к эукариотическому клеточному типу объем генома, к тому же включающий в себя участки ДНК, свободные от кодирования аминокислотных последовательностей белков, открыл перспективу для использования живыми системами принципиально иных **генетических механизмов регуляции** жизнедеятельности. На уровне генетического аппарата это проявилось в увеличении доли регуляторных сайтов ДНК, усложнении структуры промоторов (области,

с которых запускается транскрипция), смене кольцевых молекул ДНК на линейные, что допускает существенно большие возможности регуляции генетических функций ДНК, в т.ч. за счет комплексирования с различными белками (нуклеопротеидный комплекс ДНК и основных белков гистонов, нуклеосомная организация первичной хромосомной нити, эу- и гетерохроматиновые участки интерфазных хромосом, расширенный спектр ферментов репликации, транскрипции, репарации, белки-транскрипционные факторы, включая, наряду с общими, ткане-специфичные). В итоге стало возможным считывать информацию генома по частям с разных групп генов в разном их сочетании в разных типах клеток и в разное время. Так, если в бактериальной клетке одновременно считывается 80-100% информации генома, то, например, у человека от 8-10% в клетках печени и почек до 44% в клетках головного мозга. **Использованию биологической информации клетки по частям** принадлежит исключительная роль в возникновении в биоте Земли и дальнейшей эволюции многоклеточных организмов.

Источник KingMed.info

В условиях усложнения генетического аппарата эукариот трудно переоценить значение возникновения в ходе исторического развития **митоза** как механизма воспроизведения в поколениях генетически однотипных клеток.

Среди цитофизиологических особенностей эукариот, увеличивших их эволюционные возможности, необходимо назвать используемое на регулярной основе **аэробное дыхание**, обеспечивающее более высокий уровень энергообеспечения жизнедеятельности (на каждую молекулу глюкозы 38 молекул АТФ в сравнении с 2 при анаэробном процессе).

Большое значение в определении эволюционного потенциала эукариотического типа клеточной организации отводят появлению у них **цитоскелета** и **эластичной оболочки**. С такой оболочкой связывают образование устойчивых клеточных ассоциаций и, следовательно, появление многоклеточных живых форм. С цитоскелетом - феномен структурно-функциональной дифференцировки клеток, то есть еще одно безусловное свойство многоклеточных существ.

Появление вследствие эволюционных преобразований митоза **мейоза** наилучшим образом решило проблему полового размножения многоклеточных организмов с обеспечением эффективного использования в интересах эволюции явления комбинативной генотипической изменчивости.

1.11. многоклеточность: прогрессивная составляющая стратегии жизни получает импульс

Эффективным эволюционным механизмом совершенствования жизненно важных отделений организма является **дифференциация (специализация) функций**, предусматривающая их обособление и разделение. Примеры реализации этого механизма, в частности, путем функциональной специализации внутриклеточных образований, обнаруживаются уже у одноклеточных эукариот (см. рис. 2.3). Ограниченность размеров тел организмов-клеток (не более 2-3 мм в диаметре), возникающий в связи с этим лимит структур, которые могли бы служить целям специализации и наращивания количества функции, делают механизм дифференциации функций на уровне простейших эволюционно бесперспективным. В полной мере для решения задач прогрессивной эволюции возможности указанного механизма были использованы в историческом развитии **многоклеточных живых существ**.

Палеонтологическая летопись свидетельствует о примерно 17 независимых «попытках» эволюции многоклеточных от одноклеточных эукариот. Для водорослей (красных, зеленых, золотистых), низших грибов-аскомицетов удается воспроизвести преемственные ряды от одноклеточных через их колониальные формы к многоклеточным конструкциям с признаками наличия тканей. Последнее обстоятельство принципиально, так как **многоклеточность в многоклеточном варианте** рассматривается как **истинная**.

Многоклеточность ведет к позитивным приобретениям в интересах как организмов (эволюционная парадигма), так и экосистемы (биогеохимическая парадигма). Во-первых, возникает возможность, в зависимости от конкретных эволюционных обстоятельств, достигать **различных размеров тела**. Последнее дает шанс освоить большее число экологических ниш, по-разному строить отношения, например, в системе «хищник-жертва» или «паразит-хозяин». Во-вторых, истинно многоклеточные организмы - это **макроскопические существа**, что позволяет им создавать в своем теле **запас питательных веществ**. Резервная биомасса крупных организмов делает их популяции менее зависимыми от ресурсной базы и повышает устойчивость экосистем.

Источник KingMed.info

Многоклеточность означает **ускорение эволюционных преобразований** путем более полного использования резерва наследственной изменчивости. Это обусловлено объединением у многоклеточных по-

лового процесса и размножения в единое целое - **половое размножение**. Хотя цикл индивидуального развития имеют все живые формы, не исключая вирусы, только у многоклеточных организмов отчетливо выделяется **эмбриональный период**. Значение этого периода заключается в том, что в нем отражен процесс исторического развития биологического вида, а эволюционно значимые изменения происходят путем преобразования эмбриогенеза. Эволюционными предшественниками многоклеточных считают **колониальные формы простейших**. В качестве аналога предковой формы из ныне существующих форм называют *Volvox* - колониальный организм, для которого установлены дифференциация на клетки переднего и заднего полушария, разделение клеток на соматические (телесные) и гаметы (половые), наличие эмбриогенеза. Вместе с тем у *Volvox* нет тканей в общепринятом смысле. Предполагается, что губки ведут свою родословную от одного предка, тогда как все другие многоклеточные формы - от другого.

Палеонтологические находки второй половины XX в. указывают время появления ранних форм многоклеточных в биоте Земли. Богатая фауна бесскелетных (беспозвоночных) живых существ размером до 1,5 м названа по месту обнаружения эдикарской (Южная Австралия). Сходные формы, например, *Kimberella* - то ли медуза, то ли моллюск, обнаружены на Белом море в России. Все они включены в группу **вен-добионтов** или **фауны вендского периода** (680-570 млн лет). Для них характерен не типичный для современных многоклеточных алло-метрический, а изометрический рост, когда увеличение размеров тела происходит без изменения пропорций его частей. Само тело соответствует по форме длинной ленте, в силу чего величины площадей его внутренней и внешней поверхностей близки (аналог среди современных животных - плоские черви). Этим достигается оптимальное при газообмене и питании путем диффузии соотношение объема тела и площади его поверхности. У вендобионтов не было органов. Последнее допускает предположение, что в их жизнедеятельности немаловажная роль принадлежала эндосимбионтам-прокариотам. В рассматриваемый исторический период из современных типов животных были кишечноротовые, кольчатые черви, примитивные членистоногие и моллюски. Жизнь того времени освоены радиальная и билатеральная симметрия тела. Во времена эдикарской биоты возникали типы, которые затем бесследно сошли с эволюционной арены. Позже, начиная со среднего кембрия, бесследного вымирания типов в биоте Земли не наблюдалось.

В последней трети XX в. в отложениях из области Хайнань (Китай), возраст которых 840-740 млн лет, обнаружены останки макроскопических бесскелетных существ червеобразной формы. Основное отличие от вендобионтов - меньшие размеры. **Хайнаньская биота**, по-видимому, вымерла, не дав предковых форм ни для эдикарской, ни для современной биот. Периодом становления окружающей нас многоклеточной жизни называют поздний докембрий и кембрий (570-500 млн лет).

Существование многоклеточных живых конструкций сопряжено с большими энергозатратами, чем одноклеточных. Так, эдикарская фауна могла возникнуть при содержании O₂ в атмосфере не менее 6-10%.

Между представителями хайнаньской, эдикарской и современной многоклеточных биот эволюционно-генетическая связь, по-видимому, отсутствует. Эволюционные и экологические преимущества многоклеточности, о которых речь шла выше, были реализованы в ходе

Источник KingMed.info

исторического развития третьей из названных биот - современной. Важнейшие черты ее представителей:

- тело состоит из большого количества клеток;
- клетки дифференцированы на половые и соматические (телесные), которые, в свою очередь, также подразделяются по структуре и функциям на определенное число клеточных типов (у человека, 220-250);
- клетки расположены в организме в несколько слоев;
- клетки интегрированы в целостную систему благодаря наличию внутренней жидкостной среды, нервной системы и ряда других механизмов.

Первая из приведенных характеристик была приобретена многоклеточными в эволюции достаточно просто и, по-видимому, одинаковым путем во всех случаях независимого возникновения многоклеточных живых конструкций: среди простейших эукариот имеется множество видов колониальных организмов. Остальные черты многоклеточности связаны с формированием многослойности, благодаря чему клетки, располагающиеся на поверхности и внутри тела, оказываются в разных условиях и, кроме того, появляется объединяющая их внутренняя среда.

Родоначальником многоклеточных современной биоты считают шаровидную колонию жгутиковых, половые клетки которой смещены в глубь колонии, а соматические на первых порах обеспечивают функции перемещения колонии в пространстве и внутриклеточного пищеварения (рис. 1.7). Так как осуществление одной и той же клеткой одновременно функций движения и пищеварения малоэффективно, можно предполагать, что дальнейшие эволюционные преобразования заключались

в специализации разных клеток в направлении преимущественно пищеварительной или двигательной функции. Результатом таких преобразований явилось оформление внутреннего слоя амебоидных клеток, осуществляющих пищеварение - **фагоцитобласт**, и наружного слоя клеток, обеспечивающих движение, - **кинобласт**.

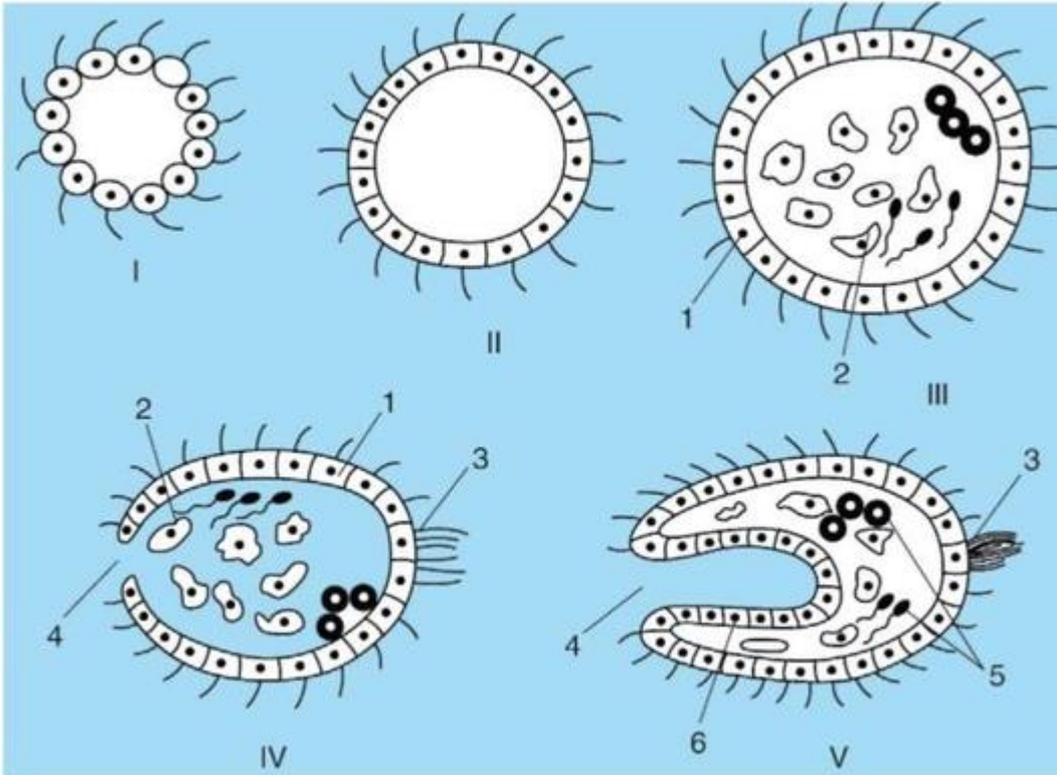


Рис. 1.7. Происхождение многоклеточных организмов (по И.И. Мечникову). I, II - сферические колонии жгутиковых; III-V - фагоцителлы разной степени сложности: 1 - кинобласт; 2 - рыхлый фагоцитобласт; 3 - скопление чувствительных клеток на переднем конце тела; 4 - ротовое отверстие; 5 - половые клетки; 6 - эпителизованный фагоцитобласт

Дифференцировка соматических клеток по названным функциям, возникшая первоначально вследствие выделения двух слоев, оказалась ключевым моментом в дальнейшем развитии многоклеточных. С двуслойностью связано появление жидкой внутренней среды, посредством которой клетки могли обмениваться химическими сигналами. Обособление и специализация части наружных клеток в направлении регистрации внешних раздражителей и передачи возбуждения на другие клетки создало предпосылки к формированию нервной системы. Гипотетический предок многоклеточных, характеризующийся наличием гамет и организацией соматических клеток в виде кинобласта и фагоцитобласта, назван **фагоцителлой** (И.И. Мечников, 1877-1880). Фагоцителлу (см. рис. 1.7) допустимо также рассматривать как двухслойный организм с дифференцировкой клеточной массы на **экто-** и **энтодерму**, воспроизводимые в эмбриогенезе всех ныне существующих многоклеточных в виде **одноименных зародышевых листков**.

Большое значение в эволюции потомков фагоцителлы имели, по-видимому, освоение ими придонного образа жизни или перемещение к поверхности, изменение характера питания (поглощение мелких или более крупных, живых или мертвых пищевых частиц) и движения (прикрепление к субстрату, пассивное или активное движение в определенном направлении). Перечисленными обстоятельствами может быть объяснено присутствие в современной биоте Земли организмов с лучевой и двусторонней (билатеральной) симметрией тела.

Важным шагом стало образование третьего зародышевого листка - **мезодермы**. Последний становится источником клеточного материала для мышечной и соединительной тканей, структур внутреннего скелета. С появлением мезодермы создаются предпосылки для образования у многоклеточных половых желез, чем обеспечивается надежная защита созревающих половых

Источник KingMed.info

клеток от прямых воздействий внешней среды. Практически все животные с **тремя зародышевыми листками** характеризуются подвижным образом жизни и билатеральным типом симметрии. Присущая им двигательная активность с использованием мышц предусматривает напряженный обмен веществ, что, в свою очередь, требует решения проблемы выведения из организма значительного объема продуктов диссимиляции. Поэтому у трехслойных животных впервые появляется и прогрессивно эволюционирует выделительная система.

Принципиальное событие прогрессивной эволюции многоклеточных заключается в возникновении **вторичной полости тела** или **целома**, первоначально выполнявшего важную с точки зрения интенсификации двигательной активности функцию **гидростатического скелета**. Параллельно оптимизируются половая и выделительная функции: прежде чем быть выведенными во внешнюю среду, гаметы и продукты диссимиляции попадают в целом. Существенное событие в историческом развитии многоклеточных - приобретение **регуляторного типа эмбрионального развития**. Для него в отличие от **мозаичного типа** типичен **высокий уровень интеграции формообразовательных (морфогенетических) преобразований** в развивающемся зародыше. Следствием стала высокая степень автономности индивидуального развития относительно условий, в которых оно протекает, и, таким образом, приоритет генетических факторов над средовыми в достижении требуемого результата эмбриогенеза.

Среди современных многоклеточных животных выделяют группы **первичноротых** и **вторичноротых**, различающихся ходом эмбрионального развития. Именно вторая группа соответствует прогрессивному направлению эволюции, хотя конкретные механизмы и факторы этого далеки от понимания. Для вторичноротых, в отличие от первичноротых, характерен регуляторный тип эмбриогенеза (см. здесь же, выше).

Многоклеточные формы современной биоты, кайнозойской по времени оформления (540-495 млн лет), отличаются структурной особенностью, сыгравшей существенную роль в обеспечении прогрессивного направления эволюции. Речь идет о **минерализованном скелете**. Трудно составить полный список преимуществ, открывающихся у обладателей твердого скелета. Прежде всего, речь идет об исключительных показателях двигательной активности на новой морфофункциональной основе. Биоэнергетическая база для этого в виде аэробного дыхания была готова.

В процессе исторического развития живой природы на Земле возникало не менее 35 типов многоклеточных организмов, из которых в настоящее время существует 26.

1.12. экологические кризисы в истории земной жизни

Об **экологическом кризисе** говорят, когда среда жизни становится непригодной для дальнейшего сохранения ранее сложившихся экосистем, выживания крупных групп организмов или даже биот. В зависимости от протяженности территории, кризис бывает **глобальным** или **региональным**. На протяжении большей части истории жизни на планете причины экологических кризисов заключались в **радикальном изменении природных условий** (смена анаэробной среды на аэробную, покровные оледенения). С появлением людей стали возможны кризисы антропогенной природы.

Один из ранних **глобальных экологических кризисов** датируется временем, отстоящим от наших дней на 1,8-1,7 млрд лет. Около 1,9 млрд лет тому назад концентрация O₂ в атмосфере Земли достигла 1%. «Кислородная революция» заняла порядка 100-200 млн лет. В связи с этой

Источник KingMed.info

революцией сложившаяся ранее почти исключительно анаэробная био-та вследствие «отравления» кислородом претерпела катастрофические изменения. Многие из экосистем погибли, другие перестроились. Мир жизни в целом из анаэробного превратился в аэробный.

Правилom является то, что после очередного кризиса жизнь не только сохраняет себя, но входит в следующий этап расцвета на основе уже иных форм. Так, на смену прокариотической протерозойской (докем-брийской) биосфере пришла современная фанерозойская (кембрийская) биота с переходом лидирующих позиций к эукариотам и истинно многоклеточным скелетным организмам.

Современный этап истории планеты характеризуется развитием **глобального экологического кризиса, но антропогенной природы**. В его основе лежит нарастающее **давление человечества на среду жизни**, обусловленное неуклонным **ростом народонаселения** и появлением **новых технологий**, расширяющих доступ людей к природным, нередко невозполнимым ресурсам, прежде всего энергетическим. Суммарная численность древнейшего человека умелого (*Homo habilis*) достигала 100 тыс., древнего человека прямоходящего, в частности, синантропов (*Homo erectus pekinensis*) - 1 млн (по другим данным 300 тыс.), современного человека разумного (*Homo sapiens*) на момент появления вида (кроманьонцы) - 3 млн, а к 1500 г. н.э. - 350 млн особей. В настоящее время население Земли составляет порядка 6 млрд.

Первый **антропогенный экологический кризис** датируется верхним палеолитом и связан с эффективным использованием людьми техники загонно-облавной охоты на крупных млекопитающих. Позже, уже в мезолите (примерно 15 тыс. лет назад) изобретены лук и стрелы, к участию в охоте приобщаются собаки, что повышает ее результативность (рис. 1.8). Итог деятельности охотников того времени - уничтожение мамонта, носорога Мерка, пещерных медведя, льва, гиены, сокращение поголовья зубров, диких лошадей и многих других видов «промысловых» животных. Активность первых людей внесла существенные изменения в фауну Земли, лишило человечество тех времен главного пищевого ресурса и создала кризисную ситуацию. В мезолите в жизнь людей вошли войны. Выход человечества из палеолитического кризиса был обусловлен **«неолитической революцией»** (неолит, начало от X-IX вв. до н.э., датировка различается для разных регионов). Она состояла в переходе к **одомашниванию (синантропизация) животных** (рис. 1.9) и **культурному земледелию**.

Неолитическая революция выявила важную закономерность. **Бесконтрольная деятельность людей по обеспечению своего «сиюминутного» благополучия**, немислимая без изъятия природных ресурсов во все возрастающих объемах, в сочетании с ростом народонаселения **порождает антропогенные кризисы**. Так, одним из разрушительных

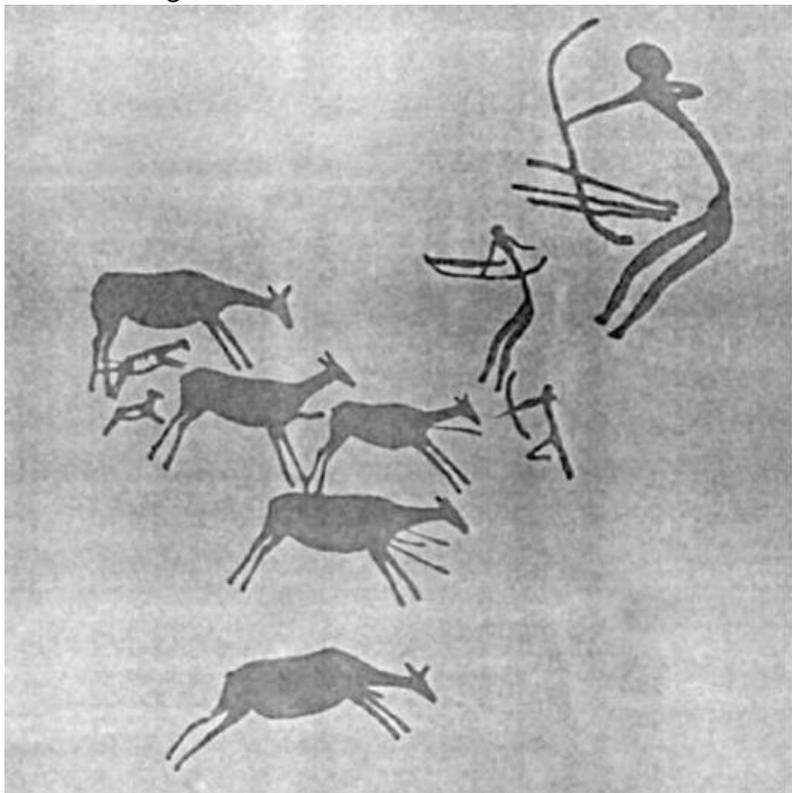


Рис. 1.8. Загонно-облавная охота. Наскальный рисунок в Сахаре, примерно 7 тыс. лет назад

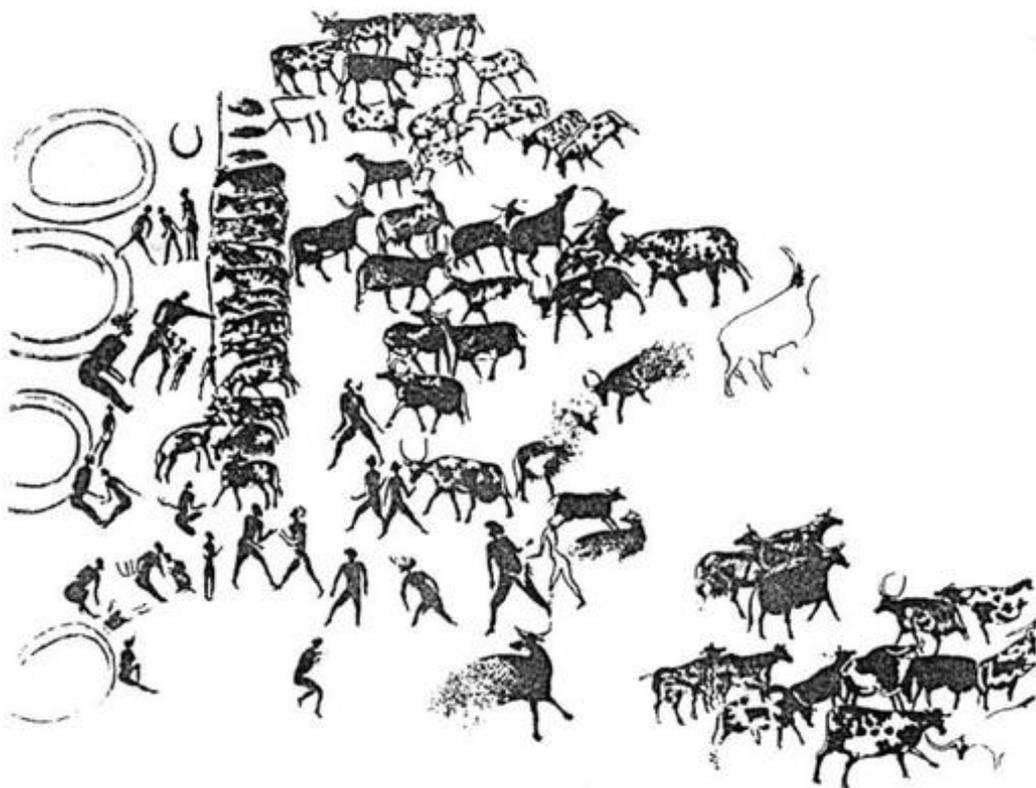


Рис. 1.9. Дойка коров на стоянке. Наскальный рисунок в Сахаре, примерно 7 тыс. лет назад

результатов неолитического скотоводства, обусловленным перевыпасом, стало появление на карте африканского континента пустыни Сахара, на месте которой 10 тыс. лет назад была саванна. «Ноу-хау» неолита стало поливное земледелие, которое стабильно обеспечивало более высокие урожаи. Ирригация, однако, вела к засолению и смыву почв с прогрессирующим

Источник KingMed.info

снижением их продуктивности, заиливанию и высыханию рек. Опустынивание обширных территорий в неолите, приведшее к **неолитическому антропогенному экологическому кризису**, было следствием порочности господствующей тогда системы обработки земли, а рост численности домашних животных близ поселений людей способствовал ускорению процесса.

Антропогенные экологические кризисы, если их оценивать с позиций интересов не природы, а общества, являются **экономическими**. История человечества дает достаточно примеров, подтверждающих правило, - освоение новых прогрессивных технологий, расширяющих возможности людей в плане интенсификации потребления природных ресурсов, с одной стороны, служит преодолению возникающих кризисных ситуаций и обеспечению дальнейшего роста народонаселения, но с другой - с течением времени неизбежно порождает очередные экологические проблемы.

Вопросы для самоконтроля

1. Что изучает биология?
2. Перечислите основные свойства жизни.
3. Каковы основные гипотезы происхождения жизни и в чем заключается их суть?
4. Перечислите уровни организации жизни. Каковы элементарные единицы и элементарные явления на каждом из них?
5. Изложите основные положения симбиотической и инвагинаци-онной гипотез происхождения эукариотической клетки.
6. Какие прогрессивные возможности существования организмов предоставляет многоклеточность?
7. В чем заключается биосоциальная природа человека?

Раздел II. КЛЕТОЧНЫЙ УРОВЕНЬ ОРГАНИЗАЦИИ ЖИЗНИ

Глава 2

КЛЕТОЧНЫЙ УРОВЕНЬ ОРГАНИЗАЦИИ ЖИЗНИ - ОСНОВА ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ И РАЗВИТИЯ ЖИВЫХ ФОРМ ВСЕХ ТИПОВ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ. БИОЛОГИЯ КЛЕТКИ

Среди всеобщих обусловленных «инфраструктурой» эволюционного процесса уровней организации жизни клеточному уровню принадлежит особое место. Клетка, представляющая элементарную структуру этого уровня, необходима и, в то же время, достаточна, чтобы жизнь как особое явление существовала в пространстве и времени. Клеточная организация наделена всем необходимым для наращивания количества и разнообразия, сохранения и применения в жизненных обстоятельствах биологически полезной информации, активной мобилизации веществ и энергии из окружающей среды и их использования в целях построения живых структур, обеспечения требуемых функций. Элементарное явление клеточного уровня представлено совокупностью упорядоченных в объеме клетки и закономерно распределенных по фазам клеточного цикла реакций метаболизма, обуславливающих реализацию потоков информации, энергии и веществ в живых системах. **События на клеточном уровне обеспечивают биоинформационное и вещественно-энергетическое сопровождение феномена жизни на всех уровнях ее организации.**

Хотя первым в перечне всеобщих уровней организации жизни значится молекулярно-генетический (см. п. 1.6), изучение существенных ее проявлений целесообразно начать с клеточного уровня.

2.1. клетка - элементарная единица живого

Клетка - это наименьшая по размерам биологическая структура, которая наделена всей полнотой свойств жизни и способна в приемлемых условиях среды поддерживать эти свойства в себе самой и передавать их в ряду поколений. Современная жизнь вне связи с клеткой невозможна. Это делает клетку **элементарной структурной, функциональной и генетической единицей живых форм**¹. Другими словами, клетка составляет **основу строения, функций и развития** всех живых существ - прокариотических и эукариотических, одноклеточных и многоклеточных, даже неклеточных (вирусы), животных, растений, грибов, лишайников. Клеточная организация, как таковая, характеризуется наличием: мембраны, отграничивающей клетку от окружения; ДНК; цитоплазмы. Занимая положение **элементарной единицы жизни**, клетка отличается сложным строением. Указанная сложность по-разному реализуется в про- и эукариотических клетках (см. п. 2.3). Место клетки в жизненных процессах описывается клеточной теорией.

2.2. клеточная теория

Клеточная теория сформулирована немецким зоологом Т. Шванном (1839). Так как он активно использовал данные своего современника ботаника М. Шлейдена, последнего по праву считают соавтором клеточной теории. Исходя из предположения о гомологичности (общности происхождения) растительных и животных клеток, что доказывалось одинаковым механизмом их возникновения, Т. Шванн обобщил сведения о клеточном строении различных организмов в виде теории, по которой клетки **являются структурной и функциональной основой живых существ**. Во 2-й половине XIX в. немецкий патолог Р. Вирхов сделал важный вывод о том, что **клетка может возникнуть лишь из уже существующей клетки**. Р. Вирхов рассматривал

Источник KingMed.info

клетку также как **элементарную единицу патологии** организма, считая, что в основе болезней лежат изменения на клеточном уровне.

Клеточная теория включает три положения.

Первое из них утверждает, что **жизнь**, какие бы сложные или простые формы она не принимала, **в ее структурном, функциональном**

¹ Характеристика клетки как генетической единицы означает, что в основе главных форм развития живых существ - индивидуального (онтогенез) и исторического (филогенез) - лежит принцип клеточной организации.

и **генетическом плане обеспечивается только клеткой**. Эта роль клетки обусловлена тем, что она является биологической структурой, при помощи которой происходит извлечение из окружающей среды, превращение и использование организмами энергии и веществ. В клетке сохраняется и воплощается в процессы жизнедеятельности биологическая (генетическая, наследственная) информация - ДНК, матричный механизм репликации ДНК и синтез белков.

Второе положение говорит о том, что в настоящих условиях единственным **способом возникновения новых клеток является деление существующих клеток**. В обосновании клеточной природы земной жизни тезису о единообразном способе образования клеток принадлежит особая роль. Этот тезис использовали М. Шлейден и Т. Шванн как свидетельство гомологичности клеток различных типов¹. Современная биология расширила круг доказательств. Независимо от структурно-функциональных, химических и иных особенностей все клетки одинаковым образом:

- сохраняют биологическую информацию (ДНК);
- удваивают свой генетический материал с целью передачи количественно и качественно полноценной биоинформации в ряду поколений (репликация ДНК);
- используют биоинформацию для обеспечения функциональных отправлений (матричный синтез белковых молекул);
- вырабатывают и переносят энергию (АТФ);
- превращают энергию в работу.

Третье положение соотносит клетку с многоклеточными формами. **Многоклеточное существо** - это совокупность **высоко интегрированных в систему организма клеточных ансамблей**, качественно и количественно **закономерно представленных в тканевых и органных структурах, объединяемых дистантными гуморальными, нервными и иммунными**, а также **местными** (цито- и хемокины, ростовые факторы) **формами регуляции и интеграции**. Системе (здесь организм) свойственно наличие специфических качеств, не сводимых к свойствам элементов (здесь клетки), образующих систему. Указанные качества - результат закономерного пространственно-

¹ Авторы клеточной теории, выдвигая верное положение о единообразном пути возникновения всех клеток, механизм их образования представляли неверно. М. Шлейден считал, что клетки возникают путем конденсации слизистого вещества в ядро с последующим наложением и отграничением от окружения цитоплазмы. Т. Шванн разделял эту точку зрения.

временного взаимодействия элементов системы. В XIX в. Р. Вирхов предложил **концепцию «клеточного государства»**, суть которой состояла в утверждении, что хотя клетка и является

Источник KingMed.info

самостоятельным структурно-функциональным образованием, но в составе многоклеточного организма ее жизнедеятельность подчинена задачам и согласуется с активностью других клеток этого организма.

Системный характер организации, функционирования и развития свойственен не только организму, но и другим принципиальным биологическим категориям - геному и генотипу, отдельно взятой клетке, клеточной популяции (тканевая клеточная система), популяции организмов, биоценозу или экосистеме, биосфере.

Системный подход как научно-методологическое направление используется в биологических исследованиях с начала минувшего столетия и реализуется в формате научной дисциплины **системной биологии**. В современной науке о жизни, наряду с системной биологией, зародилось направление **биология систем** - *systems biology* (см. п. 1.1).

2.3. типы клеточной организации

Имеется большое разнообразие клеток, которые различаются по размерам и форме, структурным и ультраструктурным, химическим и другим признакам. **Главных типов клеточной организации** два - **прокариотический** и **эукариотический**. Различие между ними видят в том, что в первом случае - это относительно просто устроенные клетки со сложной физиологией, а во втором - это клетки со сложной внутренней организацией. Указывая на сравнительно сложную или простую структуру (морфологию), имеют в виду прежде всего компартментацию клеточного объема при помощи мембран (см. п. 2.4.1) или ее отсутствие. Эукариотический тип представлен подтипом клеток **одноклеточных организмов (простейшие)**, и подтипом клеток **многоклеточных существ**, а также **животными, растительными** клетками, клетками **грибов, лишайниками**.

Клеткам **прокариотического типа** (рис. 2.1), к которым относят бактерии и цианобактерии (в более ранних систематиках сине-зеленые водоросли), свойственны малые размеры (0,5-5,0 мкм диаметром или длиной) и отсутствие обособленного ядра (**доядер-ные формы**), так как наследственный материал - ДНК - не отграничен от цитоплазмы оболочкой и, следовательно, не заключен в отдельную внутриклеточную структуру. **Молекулы** прокариотической **ДНК** имеют форму замкнутого кольца. Генетический аппарат

клетки представлен, как правило, одной хромосомой, хотя есть исключения. В **хромосоме прокариот (нуклеоид)** нет белков основного характера - гистонов, что указывает на различия в организации и регуляции генетических функций в клетках прокариотического и эукариотического типов. К особенностям структуры и функционирования аппарата биосинтеза белка относят меньшие размеры рибосом и их субъединиц, полицистронный формат транскрипции и трансляции. В цитоплазме прокариотических клеток за некоторым исключением (пурпурные бактерии, цианобактерии) не развита система мембран. Для прокариот не типичны внутриклеточные перемещения цитоплазмы (ци-клиз) или амeboидное движение. Двигательная активность некоторых форм обеспечивается жгутиками. Для прокариот характерна быстрая смена поколений. Время, необходимое для образования дочерних клеток из материнской (**время генерации**), - десятки минут.

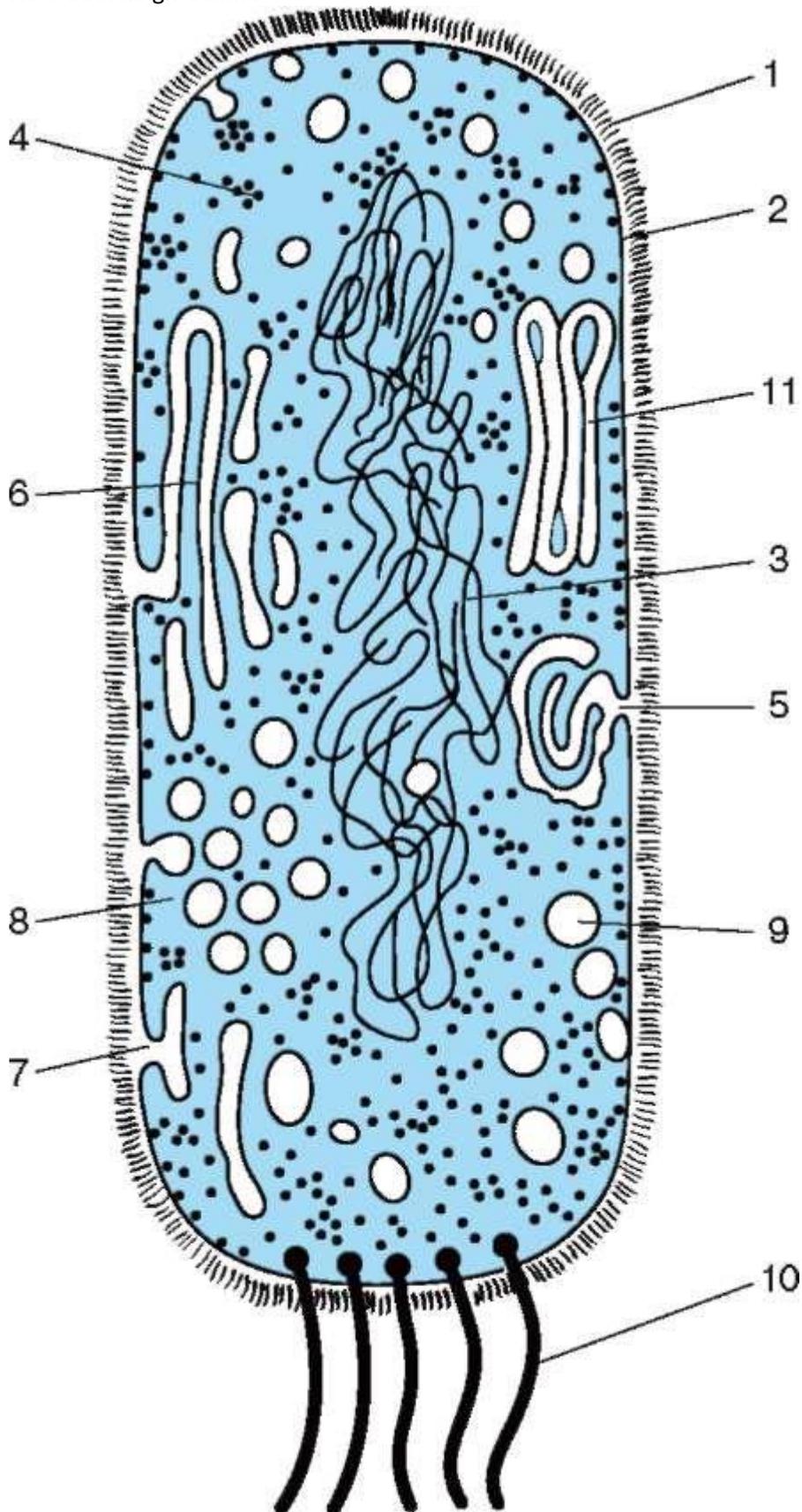


Рис. 2.1. Прокариотическая клетка (схема): 1 - клеточная стенка; 2 - плазматическая мембрана; 3 - ДНК нуклеоида, 4 - полирибосомы цитоплазмы; 5 - мезосома; 6 - ламеллярные структуры; 7 - впячивания плазмалеммы; 8 - скопления хроматофоров; 9 - вакуоли с включениями; 10 - бактериальные жгутики; 11 - пластинчатые тилакоиды

Современные прокариоты - сборная группа организмов. Различия относятся к типу обмена веществ (аэробы и анаэробы, хе-моавтотрофы и фотоавтотрофы, хемогетеротрофы), средам обитания, среди которых есть экстремальные по температурным, химическим и иным жизненно важным условиям, характеру связей в биоценозах (свободно существующие формы, паразиты, комменсалы). Оправдано заключение об исключительной эколо-

гической пластичности прокариот, которую связывают с особенностями организации и пластичностью прокариотического генома.

Отличительные признаки клеток **эукариотического типа** (рис. 2.2) - обособленное от цитоплазмы ядро (**ядерные формы**) и значительно большее количество ДНК на клетку. Молекулы **ДНК** имеют **линейную форму** и находятся в связи с гистонами (**нуклеогисто-новый комплекс**). ДНК эукариотических клеток распределена между

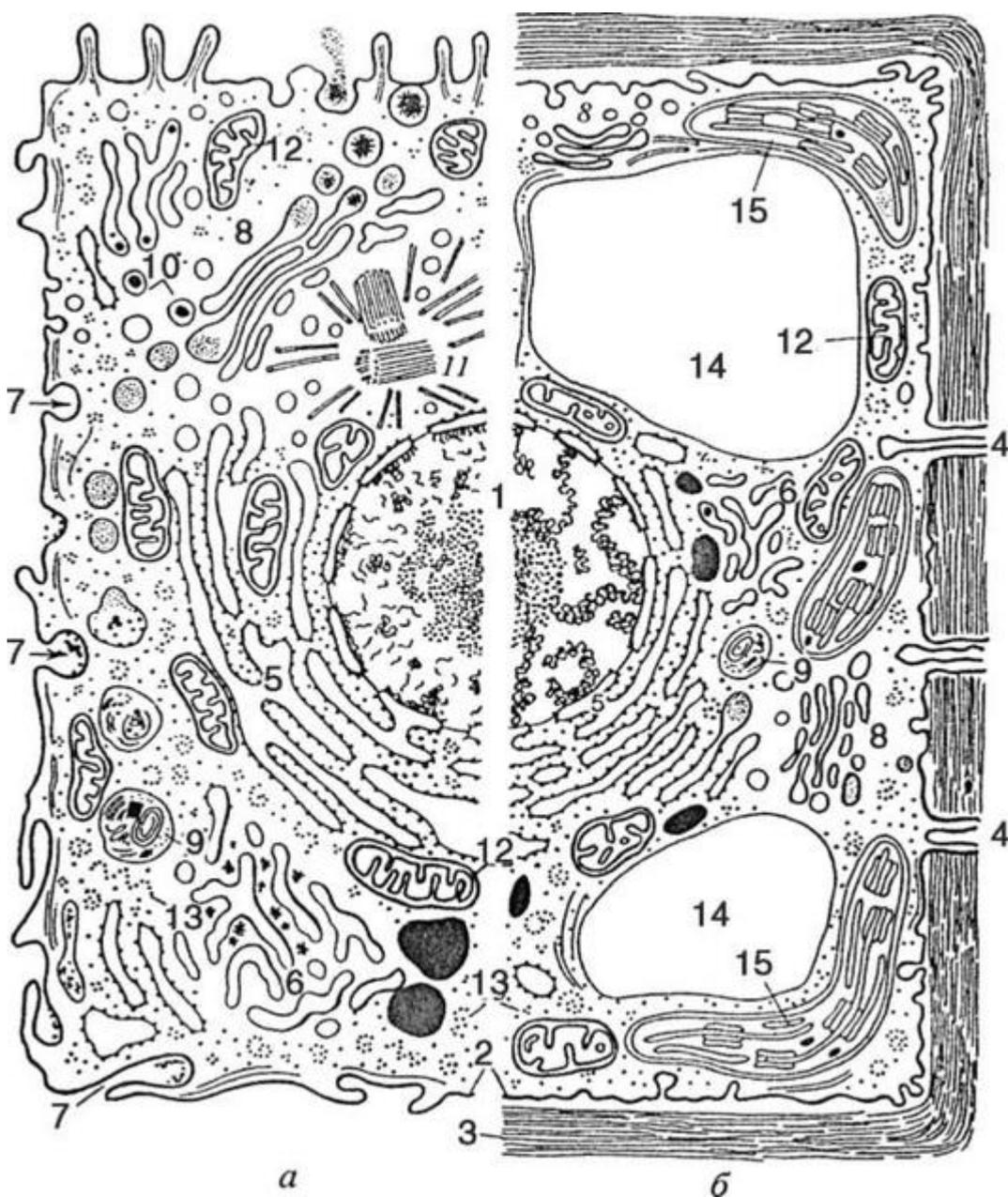


Рис. 2.2. Эукариотическая клетка: а - животного происхождения; б - растительного происхождения (схема). 1 - ядро с хроматином и ядрышком; 2 - плазматическая мембрана; 3 - клеточная стенка; 4 - плазмодесма; 5 - гранулярный эндоплазматический ретикулум; 6 - гладкий

Источник KingMed.info

ретикулум; 7 - пиноцитозная вакуоль; 8 - аппарат Гольджи; 9 - лизосома; 10 - жировые включения в гладком ретикулуме; 11 - центриоль и микротрубочки центросферы; 12 - митохондрии; 13 - полирибосомы гиалоплазмы; 14 - центральная вакуоль; 15 - хлоропласт

большим или меньшим числом ядерных структур - **хромосом**. Эукариотические клетки крупнее прокариотических, их диаметр или длина достигает десятков и сотен микрон. В цитоплазме таких клеток присутствуют постоянные структуры (**органеллы**) частью мембранного, а частью безмембранного строения. **Время генерации** эукариотических клеток исчисляется часами и десятками часов.

Особенности **растительных клеток** (см. рис. 2.2) - наличие среди органелл **пластид**, отсутствие **центриолей**, присутствие в клеточной стенке полисахарида **целлюлозы**. Для клеток растений характерно интенсивное внутриклеточное движение цитоплазмы (**циклоз**).

В состав клеточных стенок **грибов** («низшие растения» в более ранних систематиках; в настоящее время выделены в отдельное Царство - см. п. 1.9) входит полисахарид **хитин**.

Особенность **одноклеточных** эукариотических **организмов - простейших** - то, что они (исключая колониальные формы) в **структурном отношении соответствуют уровню клетки, а в физиологическом - особи**. Специфическая черта организации некоторых (но далеко не всех) видов простейших - присутствие в цитоплазме миниатюрных образований, выполняющих в объеме клетки функции органов многоклеточного организма. Так, у инфузорий (рис. 2.3) - это цитостом,

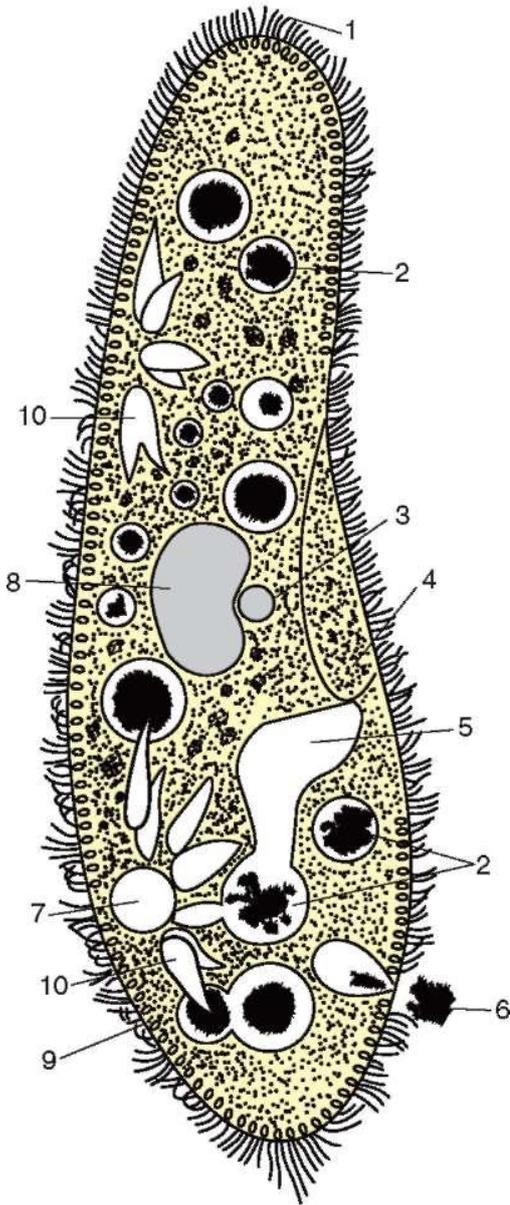


Рис. 2.3. Одноклеточный организм - инфузория: 1 - реснички; 2 - пищеварительные вакуоли; 3 - микронуклеус; 4 - клеточный рот (цитостом); 5 - клеточная глотка (цитофаринкс); 6 - анальная пора; 7 - выделительная (сократительная вакуоль); 8 - макронуклеус; 9 - трихоцисты; 10 - проводящие каналы пульсирующей вакуоли

цитофаринкс, пищеварительные вакуоли и порошица, образующие в совокупности аналог пищеварительного тракта. Генетический аппарат инфузорий представлен двумя ядрами - вегетативным и генеративным. Функция первого - генетический контроль обмена веществ и жизнедеятельности организма, функция второго - обеспечение полового процесса.

2.4. принципы структурно-функциональной организации клетки многоклеточного животного организма

2.4.1. СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНО-МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ ВНУТРИКЛЕТОЧНАЯ КОМПАРТМЕНТАЦИЯ. БИОЛОГИЧЕСКАЯ МЕМБРАНА. НЕМЕМБРАННЫЕ СПОСОБЫ КОМПАРТМЕНТАЦИИ

Упорядоченность содержимого эукариотической клетки и происходящих в ней процессов достигается путем **компартаментации**, то есть разделения ее объема на компартменты или «ячейки», различающиеся по химическому, прежде всего, ферментному составу.

Источник KingMed.info

Компартментация обеспечивает пространственное разделение и/или обособление веществ и процессов в клетке. Понятие компартмента распространяется на целую органеллу (митохондрия) или ее часть (внутренняя мембрана митохондрии или ограничиваемое ею пространство). Иногда в качестве самостоятельного компартмента выделяют клеточное ядро.

Роль **биологических мембран** в компартментации объема эукариотической клетки очевидна (рис. 2.4). Мембраны разных компартментов различаются по химической организации (липидный и белковый состав, набор ассоциированных молекул). Этим достигается их функциональная специализация.

Мембраны выполняют функции: отграничивающую (барьерную), поддержания формы и сохранения содержимого структуры (клетки или органеллы), организации поверхностей раздела между гидрофильной водной и гидрофобной неводной фазами и, таким образом, избирательного размещения в объеме клетки соответствующих ферментных систем. Сами мембраны благодаря наличию в них жировых веществ (липидов) образуют в клетке гидрофобную фазу для химических превращений в неводной среде.

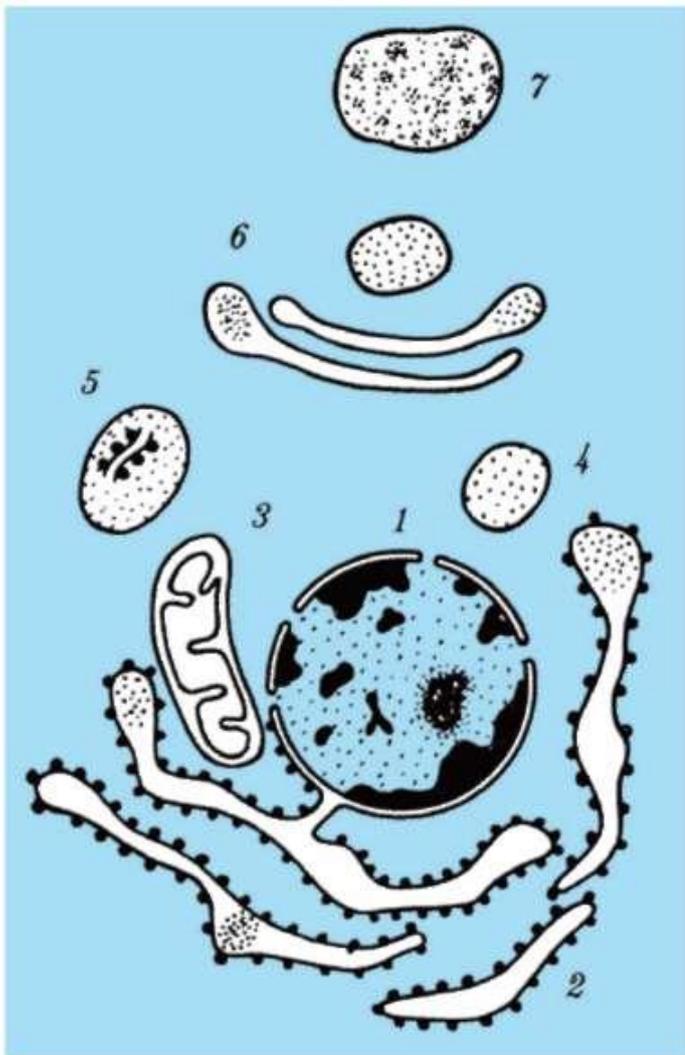


Рис. 2-4. Компартментация объема клетки с помощью мембран: 1 - ядро; 2 - шероховатая цитоплазматическая сеть; 3 - митохондрия; 4 - транспортный цитоплазматический пузырек; 5 - лизосома; 6 - пластинчатый комплекс; 7 - гранула секрета

Общепринята **жидкомозаичная модель** молекулярной организации биологической мембраны (рис. 2.5). Конструкционную основу мембраны составляет **двойной** или **бимолекулярный слой**

Источник KingMed.info

(бислой) липидов. Мембранные липиды полярны. Их молекулы имеют гидрофобные, обращенные в бислое друг к другу и внутрь мембраны, и гидрофильные «наружные» участки. Липидный бислой имеет свойство, ликвидируя свободные края, самозамыкаться, что обуславливает способность мембран восстанавливать непрерывность при повреждениях. Это же свойство лежит в основе образования с восстановлением непрерывности мембраны клеточной оболочки пузырьков при поглощении клеткой (**эндоцитоз**) твердых частиц (**фагоцитоз**) и порций жидкости (**пиноцитоз**), а также при выделении железистой клеткой секрета (**экзоцитоз**). По агрегатному состоянию липидный бислой напоминает жидкость: липидные молекулы свободно перемещаются в пределах «своего» монослоя.

Разнообразие функций биологических мембран связано с многообразием мембранных белков. Выделяют **интегральные** и **периферические мембранные белки**. Первые пронизывают мембрану насквозь или же погружены в липидный бислой частично, вторые располагаются на поверхности мембраны. Такая структура позволяет рассматривать мембрану как жидкомозаичное образование: в двухмерном «море» липидов «плавают» белковые «айсберги» и «льдины».

Мембранный механизм компартментации объема клетки - не единственный. Известно семейство **самокомпартиментирующихся ферментов - протеаз (пептидаз)**, участвующих во внелизосом-

ном расщеплении белков. В клетках они «укрыты» в **протеасомах** (рис. 2.6). Это мультимерные гетеробелковые агрегаты «цилиндрической» формы, образующиеся путем самосборки. Протеазы в них занимают внутреннюю зону, а снаружи располагаются белки-«проводники»

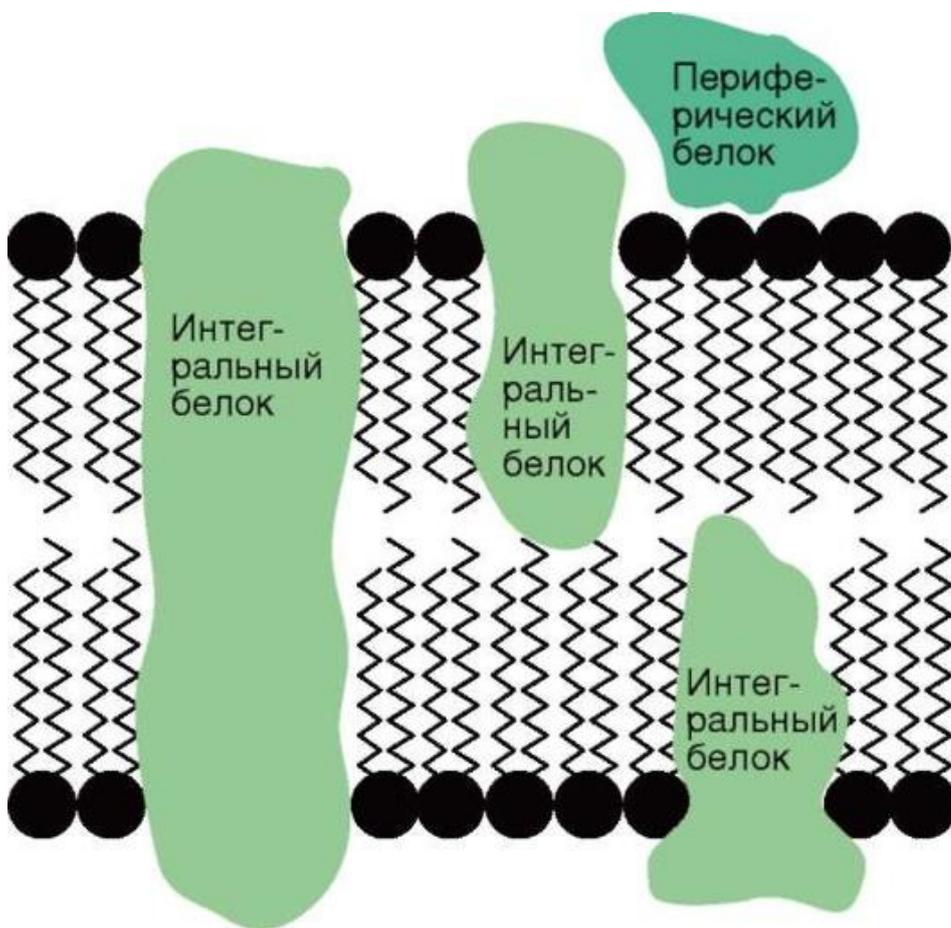


Рис. 2.5. Жидкомозаичная модель молекулярной организации биологической мембраны

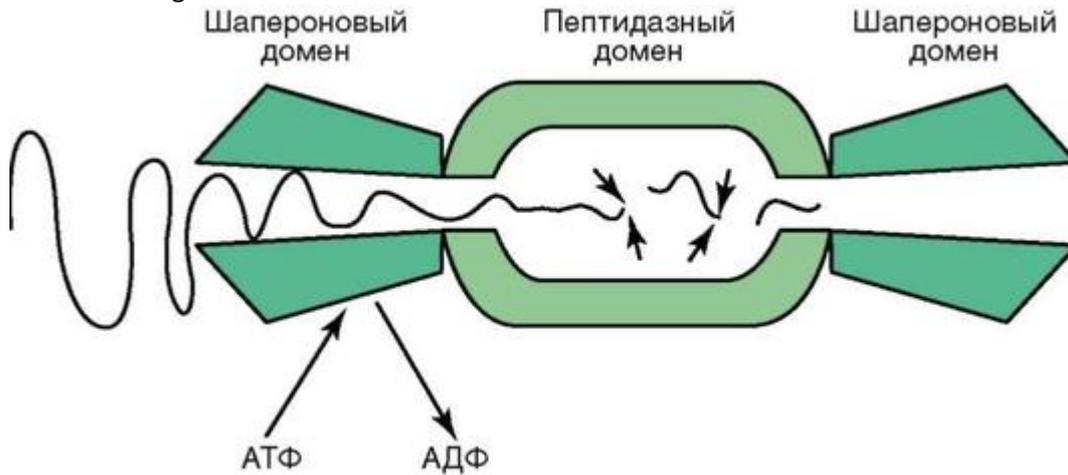


Рис. 2.6. Протеасомный комплекс (самокомпарментализующиеся протеазы)

или **шапероны** (см. п. 2.4.4.4-д и 2.4.9). В функцию последних входит опознание (детекция) белков, подлежащих протеолитическому расщеплению, и их «допуск» внутрь протеасомы к протеазам. Известно, что протеасомы обеспечивают деградацию циклина В в анафазе митоза. В комплексе с соответствующей циклинзависимой киназой (*Cdk* - англ. *cyclin dependent kinase*) названный белок принимает участие в регуляции прохождения клеткой митотического цикла (см. п. 3.1.1.1).

2.4.2. КЛЕТочНАЯ ОБОЛОЧКА

Клетки как дискретные структуры отделены от окружения оболочкой. Основу **клеточной оболочки (плазмалемма)** составляет мембрана. Изнутри к мембране примыкает **кортикальный (корковый) слой** цитоплазмы (0,1-0,5 мкм), лишенный рибосом и пузырьков, но богатый **цитоскелетными структурами** - микротрубочками и микрофиламентами, имеющими в своем составе сократимые белки. Наличие таких белков обуславливает участие этих структур в **двигательной функции**. Белки цитоскелетных образований связаны с интегральными мембранными белками (см. п. 2.4.1).

Снаружи мембрана клеточной оболочки покрыта **гликокаликсом** (10-20 нм). В его основе - комплексы белков с углеводами (**глико-протеиды**), жирами (**липопротеиды**) и жиров с углеводами (**глико-липиды**). Белковые и липидные участки комплексов находятся внутри мембраны или в связи с ней, тогда как углеводные «выдвинуты» во **внеклеточный матрикс** (внеклеточная или околклеточная среда - часть внутренней среды организма). Такая структура плазмалеммы обеспечивает избирательное взаимодействие клеток друг с другом, а также с факторами внутренней среды организма.

Среди этих факторов важная роль принадлежит **сигнальным молекулам (лиганды)**. Белки клеточных оболочек, являющиеся мишенями для сигнальных молекул, составляют семейство **рецепторных белков** или **рецепторов**. В результате их взаимодействия с сигнальными молекулами образуется **лиганд-рецепторный комплекс**, который активирует **внутриклеточный сигнальный путь (сигналинг)**. В итоге достигается необходимая реакция клеток-мишеней: активируются гены и, следовательно, образуются требуемые белки, изменяется интенсивность энергетического обмена, запускаются клеточная пролиферация, дифференцировка, апоптоз. К этому семейству относятся

адренорецепторы, взаимодействующие с таким лигандом, как гормон мозгового вещества надпочечников адреналин (рис. 2.7). Адреналин как сигнальная молекула выполняет функцию **первичного внеклеточного мессенджера** (англ. *messenger* - посланник, гонец,

Источник KingMed.info

посредник; здесь и ниже - агент, доставляющий к клетке или передающий внутри нее сигнал, побуждающий к определенному действию или изменению состояния). Образующийся гормон-рецепторный комплекс запускает внутриклеточный сигнальный путь, начинающийся с **белка-преобразователя** (семейство G-белков). Активированный G-белок (на рис. 2.7 не показан) передает сигнал на фермент **аденилатциклазу** с образованием из АТФ **циклического аденозинмонофосфата (цАМФ)**. Последний в качестве **вторичного внутриклеточного мессенджера** активирует фермент **протеинкиназу**, катализирующую **фосфорилирование** других **ферментов**. Перейдя благодаря фосфорилированию в функционально активное состояние, эти ферменты обеспечивают **метаболический** или **иной ответ**. Описанная последовательность событий соответствует, например, ситуации, когда животное попадает в экстремальные условия и вынуждено вступить в борьбу или обратиться в бегство («кошка - собака»). Адекватный ответ здесь состоит в выбросе из клеток печени в кровь глюкозы с активацией распада гликогена в мыш-

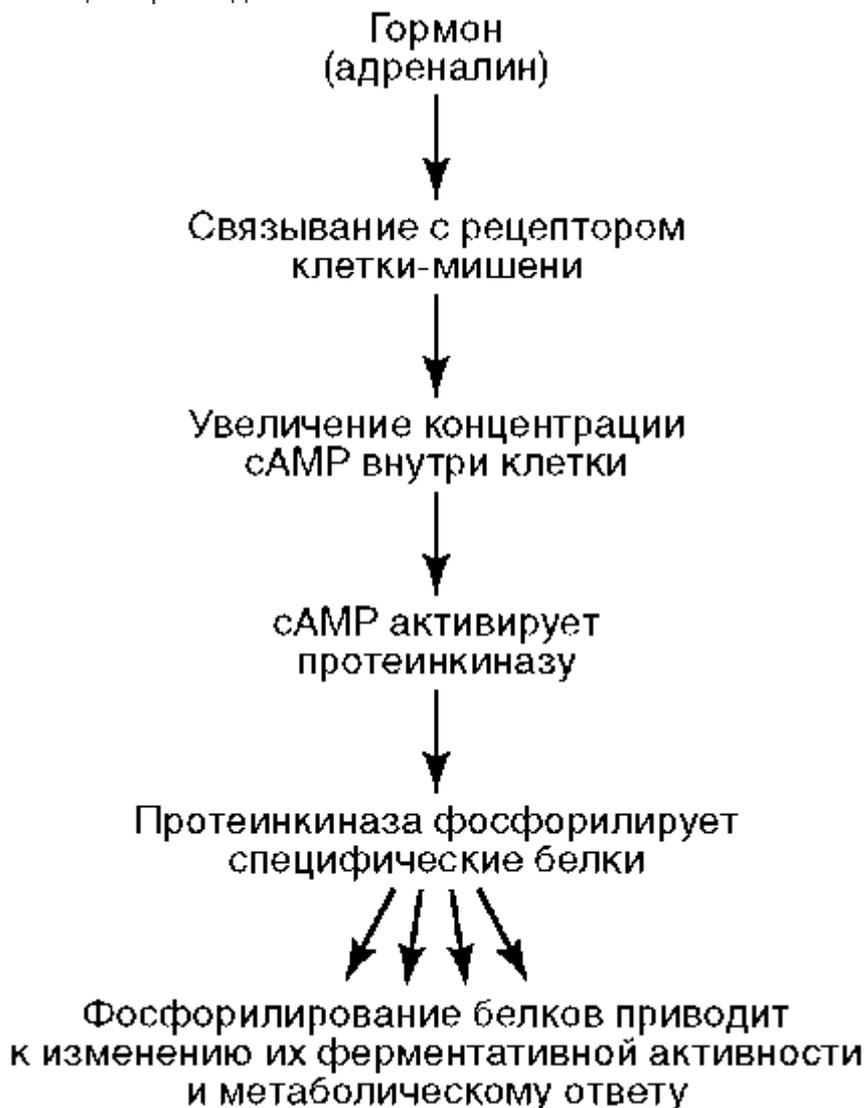


Рис. 2.7. Гормональная регуляция клеточной деятельности с участием рецепторов плазмалеммы

цах, что решает проблему покрытия возросших энергозатрат. В других случаях образование комплекса «адреналин-адренорецептор» и, далее, цАМФ приводит к активации промоторов, запускающих транскрипцию цАМФ-индуцибельных (-зависимых) генов с образованием соответствующих белков.

Источник KingMed.info

Реакция клетки на сигнальные молекулы (лиганды) зависит от наличия в плазмалемме рецепторного белка, а содержание клеточного ответа - от разновидности рецептора, активируемого сигнального пути и/или типа клетки. G-белки активируют образование не только цАМФ, но и других вторичных мессенджеров, которыми служат циклический гуанозинмонофосфат (цГМФ), оксид азота (NO), ионы Ca^{2+} , липид диацилгли-церин (ДАГ). Некоторые внутриклеточные сигнальные пути запускаются с рецепторов плазмалеммы без участия вторичных мессенджеров.

Лиганд-рецепторные взаимодействия представляют собой ключевой элемент **межклеточного общения**, без которого невозможна жизнедеятельность многоклеточного живого существа.

Белки клеточных оболочек многочисленны и разнообразны: в плазмалемме эритроцитов, например, их не менее 100. Классификация этих белков имеет функциональную основу - рецепторные, о которых речь шла выше, структурные, транспортные, обеспечивающие взаимодействия как межклеточные, так и клеток и околоклеточного окружения (внеклеточного матрикса) и др.

Структурные белки плазмалеммы во взаимодействии с цитоскелетными образованиями участвуют в поддержании формы клеток, допуская ее обратимые изменения. В обеспечении специфической формы эритроцита (двояковогнутый диск) важная роль принадлежит белку спектрину, волокна которого образуют субплазмалеммальный при-мембранный каркас. Мутации по гену спектрина фенотипически проявляются в изменении формы эритроцитов, а клинически - в развитии наследственных болезней красной крови сфероцитоза и эллиптоцитоза. Необходимым условием жизнедеятельности клеток является чрез-мембранный транспорт веществ, который должен быть избирательным и иметь скорость, соответствующую метаболическим потребностям. Эти задачи решаются благодаря специализированным транспортным системам с участием в них представителей семейства **транспортных белков**. К семейству относится, в частности, **белок анионного канала в мембране эритроцита**, посредством которого в соответствии с концентрационными градиентами происходит обмен ионами Cl^- и HCO_3^- между плазмой крови и красными кровяными тельцами в тканях и в легких.

Многие белки клеточных оболочек являются **антигенами**. Наличие помеченных распознаваемым под микроскопом «зондом» (флюоресцентный краситель) моноклональных антител, образующих комплекс исключительно со «своим» антигеном, позволяет использовать антигенные белки клеточных оболочек в качестве маркеров клеток определенного типа (белок *CD19* - маркер В-лимфоцитов человека), их положения в гистогенетическом ряду (антигенными маркерами родона-чальных клеток всех клеточных элементов периферической крови являются белки *CD34* и *CD133*, клеток лейкоцитарного ряда - *CD33*, клеток эритроцитарного ряда - *CD36*) или функционального состояния (белок *CD95* участвует в передаче клетке сигнала к апоптозу).

Некоторые белки, в том числе с антигенными свойствами, использованы природой в процессе коэволюции видов при формировании биоценозов. Они, в частности, обеспечивают проникновение в клетки животных и человека внутриклеточных патогенов: одноклеточных паразитов (*CD234* - возбудитель трехдневной малярии *Plasmodium vivax*; β 1-интегрин из группы адгезивных белков - возбудитель городского трипаносомоза или болезни Чагаса *Trypanosoma cruzi*), бактерий (*CD46* - *Streptococcus pyogenes* группы А), вирусов (*CD4* и *CD45* - ВИЧ; *CD46* - корь).

Источник KingMed.info

Маркеры *CD* («кластеры дифференцировки» - от англ. *cluster of differentiation*) используют в диагностических и/или прогностических целях. Клетки злокачественных опухолей различной локализации образуют конкретные белки-антигены: *CD24* типичен для клеток мелкоклеточного рака легких, *CD87* - рака молочной железы, кишечника, простаты. Уровень синтеза *CD82* коррелирует со скоростью метастазирования раковых клеток ряда опухолей, а наличие *CD9* типично для пониженного уровня метастазирования клеток при раке молочной железы и меланоме. Избирательное образование представителей семейства *CD* наблюдается при болезнях неонкологической природы: например, при одной из форм цирроза печени - первичном билиарном - снижен синтез *CD26*.

При перспективности научно-практического направления, как такового, индикаторный потенциал большинства маркеров *CD*, прежде всего в онкологии, где требуется высочайший уровень ответственности перед пациентом, на настоящее время ниже желаемого и не дает оснований для бесспорных диагностических заключений.

2.4.2.1. Макромолекулярный полиморфизм: механизмы и функциональные следствия

Для многих белков клеточной оболочки характерно свойство **макро-молекулярной полифункциональности**. В многоклеточном организме они являются участниками разных событий. Механизмы и следствия этого феномена иллюстрирует белковое семейство *CD44*.

CD44 - широко экспрессируемое (их образуют кроветворные клетки, Т- и В-лимфоциты, моноциты, кератиноциты, фибробласты, эндотелиальные клетки сосудов, цилиндрический эпителий желудочно-кишечного тракта, переходный эпителий мочевого пузыря) семейство изоформ (вариантов) «базовой» молекулы.

Члены семейства *CD44* - трансмембранные белки. Особенность гена *CD44* состоит в наличии двух групп экзонов (об экзон-интронной организации генов см. п. 2.4.5.5). Одна из них (экзоны 1-5 и 16-20 или *s1-10*) кодирует так называемые стабильные (*CD44s*), тогда как другая (экзоны 6-15 или *v1-10*) так называемые вариабельные (*CD44v*) изоформы белка. На посттранскрипционном уровне из пре-и(м)РНК транскрипта в результате альтернативного сплайсинга образуется более 1000 вариантов и(м)РНК. Полиморфизм изоформ и, следовательно, свойств образуемых белков усиливается благодаря посттрансляционным изменениям молекул¹: их гликозилированию, а также комплексообразованию субъединиц (полипептидов) путем полимеризации².

Молекулярный полиморфизм *CD44* и разнообразие лигандов (гиалу-роновая кислота, коллагены I и VI типов, ряд внутриклеточных белков) объясняют вовлеченность белка во многие события. Это перемещение (миграция) и метастазирование опухолевых клеток, агрегация, адгезия и активация лимфоидных клеток, представление (презентация) роста-

¹ При использовании генетической информации ДНК в жизнедеятельности клетки важная роль принадлежит пост(после)транскрипционным и пост(после)трансляционным процессам, благодаря чему путь от гена к функционирующему белку, как правило, долгий. Это объясняет, почему исследования в области геномики и протеомики (см. п. 1.1) должны проводиться согласованно.

² Гомоили гетерологичная полимеризация (ди-, три-, тетрамеризация), заключается в образовании надмакромолекулярных комплексов из, соответственно, одинаковых или разных белковых субъединиц (двух, трех, четырех полипептидов или простых белков) является эффективным механизмом регуляции функций на макромолекулярном уровне. Применительно к членам семейства *CD44* она способствует усилению сродства к определенным лигандам. Полимеризацию белковых субъединиц допустимо рассматривать как один из способов

Источник KingMed.info

безмембранной функциональной компар-тментации внутри- и внеклеточных процессов на макромолекулярном уровне.

вых факторов и цитокинов клеткам, хоуминг (англ. *home* - дом; здесь, избирательное проникновение клеток в подходящую «тканевую нишу») *T-лимфоцитов*, выход из сосудистого русла лейкоцитов.

2.4.3. КЛЕТОЧНОЕ ЯДРО

Появление 1,9-2 млрд лет назад на Земле эукариотических организмов (ядерные формы, см. п. 2.3), клетки которых отличаются наличием отграниченного от цитоплазмы ядра, оценивается как событие более фундаментальное, чем разделение мира жизни на растения и животных.

Эволюционно-функциональные приобретения, связанные с обособлением наследственного субстрата (ДНК) в отдельной структуре, описаны в разделе 1.10.

Клеточное ядро (рис. 2.8) отделено от содержимого клетки оболочкой. Функции ядра состоят в хранении наследственного материала

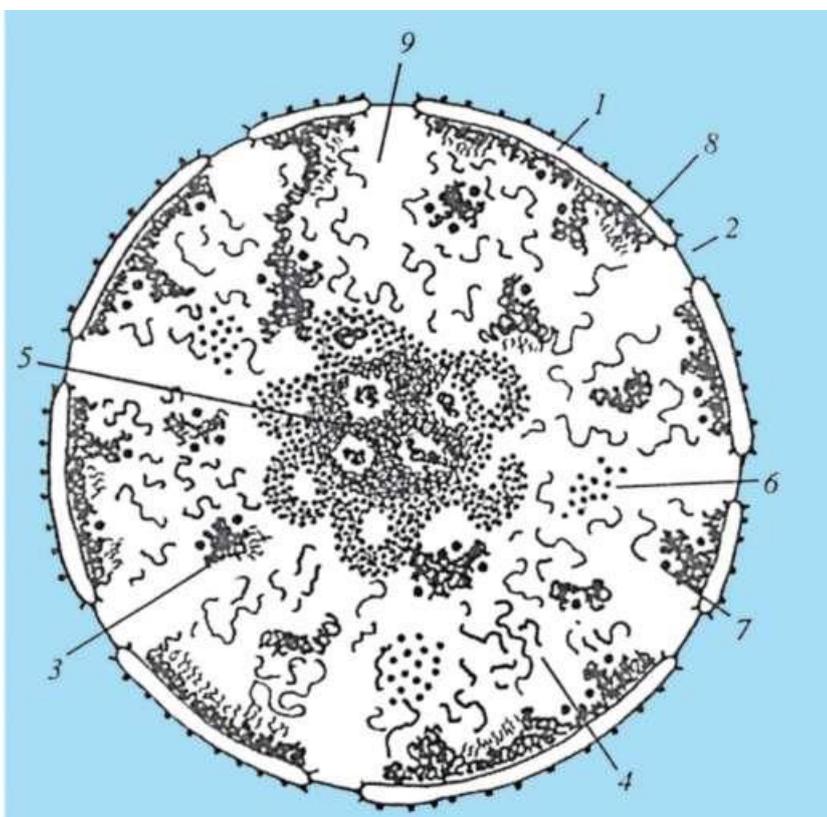


Рис. 2.8. Структура клеточного ядра (схема): 1 - ядерная оболочка (две мембраны - внешняя и внутренняя, и перинуклеарное пространство); 2 - ядерная пора; 3 - конденсированный хроматин; 4 - диффузный хроматин; 5 - ядрышко (гранулярный и фибриллярный компоненты, в центральных светлых зонах находится р-ДНК); 6 - интерхроматиновые гранулы (РНП); 7 - перихроматиновые гранулы (РНП); 8 - перихроматиновые фибриллы (РНП); 9 - кариоплазма, ядерный сок

ла (ДНК), его воспроизводстве (репликация ДНК) с целью передачи в ряду клеточных поколений (митоз), а также в реализации наследственной информации в ходе биосинтеза белка в жизнедеятельности клетки (транскрипция, процессинг пре-РНК транскриптов). В нем образуются структурные элементы - большая и малая субъединицы - цитоплазматических органелл рибосом, на которых в цитоплазме происходит образование полипептидов (простых белков).

В ядре выделяют ядерную оболочку, ядерный матрикс, ядрышко, хромосомы (хроматин), ядерный сок.

2.4.3.1. Ядерная оболочка

Функции **ядерной оболочки (кариолемма)** состоят в отграничении ядерного содержимого от цитоплазмы, поддержании условий, необходимых для выполнения ядром функций, в частности генетических, в обеспечении доступа к генетическому материалу и структурам (ДНК, хромосомы) сигналов (транскрипционные факторы), меняющих функциональное состояние генов, в упорядочении пространственной организации генетических структур и процессов, в реализации двусторонних ядерно-цитоплазматических обменов и взаимодействий.

Механизмы ядерно-цитоплазматических **транспортных потоков** разнообразны. Ионы, низкомолекулярные соединения (сахара, аминокислоты, нуклеотиды), некоторые белки (гистоны) проникают в ядро относительно легко и вне связи с порами ядерной оболочки. Известен механизм проникновения в ядро стероидных, в частности половых гормонов (эстрадиол, прогестерон, тестостерон). Будучи жирорастворимыми, они легко проходят через плазмалемму из окооклеточной среды в цитоплазму клетки, где комплексируются с цитозольными рецепторами (семейство «белков теплового шока»). Такой комплекс проходит через ядерную оболочку и связывается с гормонидуцируемыми генами. В итоге - активация последних, обуславливающая цепь событий, необходимых для полового развития организма и осуществления им репродуктивной функции. В рассмотренном примере белки теплового шока - это транскрипционные факторы в неактивном состоянии, активируемые путем взаимодействия с гормоном (рис. 2.9).

Крупные белковые молекулы, рибонуклеопротеидные комплексы (субъединицы рибосом) попадают в ядро или покидают его через особые структуры - ядерные поры. Это проверено введением в цитоплазму клетки частиц коллоидного золота (диаметр порядка 14 нм), которые проникают из цитоплазмы в ядро, предварительно скапливаясь вблизи ядерных пор.

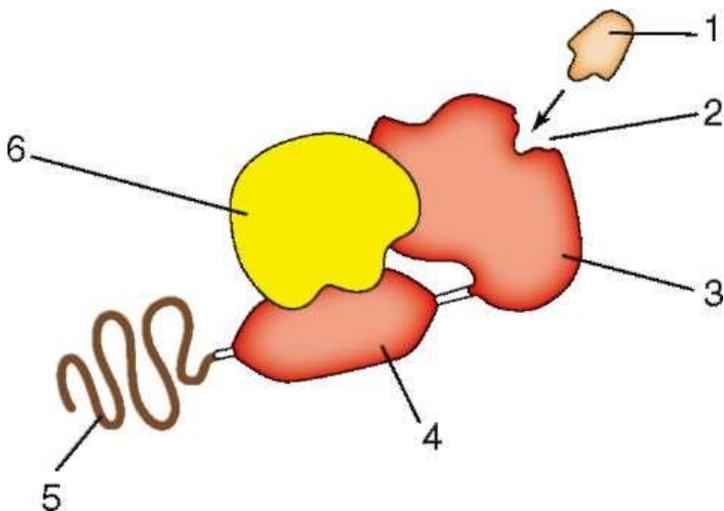
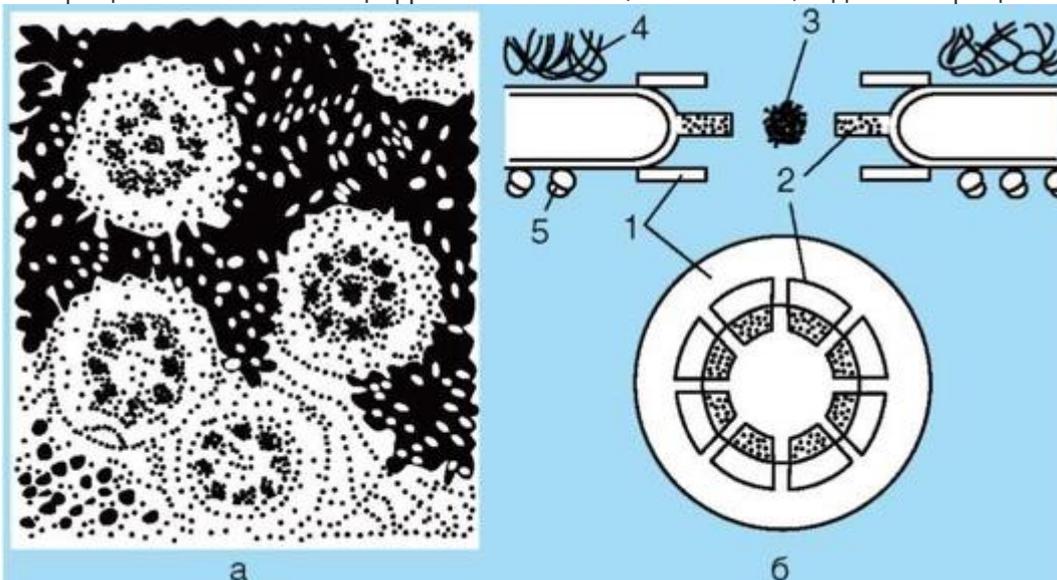


Рис. 2.9. Комплексообразование сигнальной молекулы (стероидный гормон) с цитозольным рецептором (для полового гормона - белки «теплового шока»), приводящее к транспорту в ядро и активации специфического транскрипционного фактора (схема). 1 - сигнальная молекула; 2 - цитозольный рецептор: участок (центр) связывания сигнальной молекулы; 3 - цитозольный рецептор: участок (домен) связывания сигнальной молекулы; 4 - цитозольный рецептор: участок (домен) связывания ДНК; 5 - цитозольный рецептор: участок (домен) активации транскрипции; 6 - ингибирующий белок

Источник KingMed.info

Ядерная оболочка выполняет в отношении главных ядерных структур хромосом **организующую функцию**. Преобразования ядерной оболочки и хромосом в митозе взаимосвязаны. В конце анафазы перед началом их декомпактизации хромосомы устанавливают контакты с мембранными пузырьками, которые затем, параллельно процессу де-компактизации, слагаются в ядерную оболочку. Если в эксперименте вызвать декомпактизацию хромосом уже в метафазе митоза, то каждая из них вступит в контакт с мембранным пузырьком и приобретет самостоятельную отдельную оболочку, имеющую строение ядерной. Ядерная оболочка состоит из **двух мембран**, разделенных **околядерным (перинуклеарным) пространством**. Несмотря на сходство электронно-микроскопической картины, скорость обмена фосфолипидов во внешней мембране в 4 раза превосходит скорость их обмена во внутренней. Перинуклеарное пространство (20-50 нм) сообщается с канальцами цито(эндо)плазматической сети. К наружной мембране ядерной оболочки прикрепляются рибосомы и полисомы. В околядерной зоне цитоплазмы повышено содержание микрофиламентов и микротрубочек. К внутренней мембране, за исключением участков, занятых порами, прилежит **высоко компактизированный хроматин**. Между мембраной и хроматином располагается **ядерная ламина (плотная пластинка)**. Она образована промежуточными микрофиламентами (10 нм) в комплексе с белками внутренней ядерной мембраны. Учитывая прочность связи между пластинкой и хроматином, можно думать, что этим контактом обеспечивается пространственная упорядоченность расположения хромосом в объеме интерфазного ядра, что, возможно, имеет функциональный смысл. Так, образование молекул гемоглобина требует скоординированной транскрипции генов α - и β -глобинов, которые у человека расположены, соответственно, на хромосомах 16 и 11. Такая согласованность может достигаться благодаря пространственному сближению названных хромосом. Плотная пластинка выполняет структурную функцию: при ее наличии ядро сохраняет форму в отсутствии обеих мембран ядерной оболочки.

Ядерная пора (поровый комплекс) - структура диаметром порядка 100 нм, в образовании которой принимают участие обе мембраны ядерной оболочки и более 1000 белков (рис. 2.10). Число ядерных пор на 1 $\mu\text{м}^2$ ядерной оболочки зависит от интенсивности синтетических процессов в клетке. У низших позвоночных, зрелые эритроциты которых сохраняют ядра, хотя синтеза в них сведены к нулю, на 1 $\mu\text{м}^2$ ядерной поверхности приходится до 5 пор, тогда как в активно образующих гемоглобин эритроблестах - 30. Оболочка ядра зрелого сперматозоида лишена пор. Относительное количество ядерных пор различается у животных разных видов: для лимфоцитов мышей эта цифра составляет 3,3 на 1 $\mu\text{м}^2$, а для лимфоцитов человека - порядка 5.



Источник KingMed.info

Рис. 2-10. Порový комплекс (схема): а - внешний вид ядерных пор в ядре ооцитов; б - схема строения ядерной поры: 1 - кольцо; 2 - спицы; 3 - центральная гранула; 4 - хроматин; 5 - рибосомы

Структуры, аналогичные по строению поровым комплексам, в качестве редких находок обнаружены в мембранах гранулярной эндоплазматической сети. Их функция неизвестна. Транслоконы, через которые образующиеся на рибосомах полипептиды проникают в просвет канальцев эндоплазматической сети, имеют другое строение (см. п. 2.4.4.4-а).

2.4.3.2. Ядерный матрикс

Ядерный матрикс представлен нерастворимыми белками числом порядка 50. Предполагается наличие единой для внутреннего содержимого ядра **сетчатой конструкции (скэффолд)**. Ее образуют плотно упакованные фибриллы (5-7 нм) с обозначениями согласно зонам их расположения в ядре - перихроматиновые, связанные с ядрышком (см. рис. 2.8). Конструкция связана с поровыми комплексами, плотной пластинкой, хроматином, ядрышком. Ее рассматривают как динамичную каркасную и объединяющую внутриядерные процессы структуру. Во взаимодействии с ядерным матриксом транскрипционные факторы обеспечивают требуемое взаиморасположение промоторных, энхансер-ных или сайленсерных участков транскрибируемых генов (рис. 2.11), происходят транскрипция и процессинг пре-и(м)РНК транскрипта. В генетически активных участках хроматина нуклеосомы связаны с белками матрикса (см. п. 2.4.3.4-б). Такой же контакт демонстрируют активно транскрибируемые и потенциально активные гены рДНК в области ядрышковых организаторов (см. п. 2.4.3.4-в).

Наряду с ядерным матриксом для обозначения внутренней среды ядра используют термин **«ядерный сок»**. Его роль видится в обеспечении условий для функционирования генетического аппарата клетки - наличие предшественников для образования ДНК или РНК и ферментов их синтеза, ферментов молекулярной репарации ДНК или процессинга пре-и(м)РНК транскриптов. В нем находятся «транзитные» компоненты, следующие после проникновения внутрь ядра к ДНК хромосом или же в обратном направлении к ядерной оболочке и далее в цитоплазму.

2.4.3.3. Ядрышко

В интерфазных клеточных ядрах эукариот обнаруживается хорошо различимое при микроскопировании образование - **ядрышко (нукле-ола)**. В ядрышках образуются молекулы **рибосомных РНК (рРНК)**, входящих в структуру рибосом - безмембранных цитоплазматических органелл, на которых происходит образование полипептидов (простых белков). Необходимость белковых синтезов для жизнедеятельности любой клетки объясняет наличие ядрышек в клетках всех эукариот. Это правило подтверждается исключениями. Ядрышек нет в ядрах дробящихся клеток (бластомеров) в эмбриогенезе амфибий, поскольку в них используются рибосомы, заготовленные «впрок» в яйцеклетках в периоде роста овогенеза. Ядрышки утрачиваются сохраняющими ядра зрелыми эритроцитами птиц, поскольку в этих клетках белковый синтез завершен.

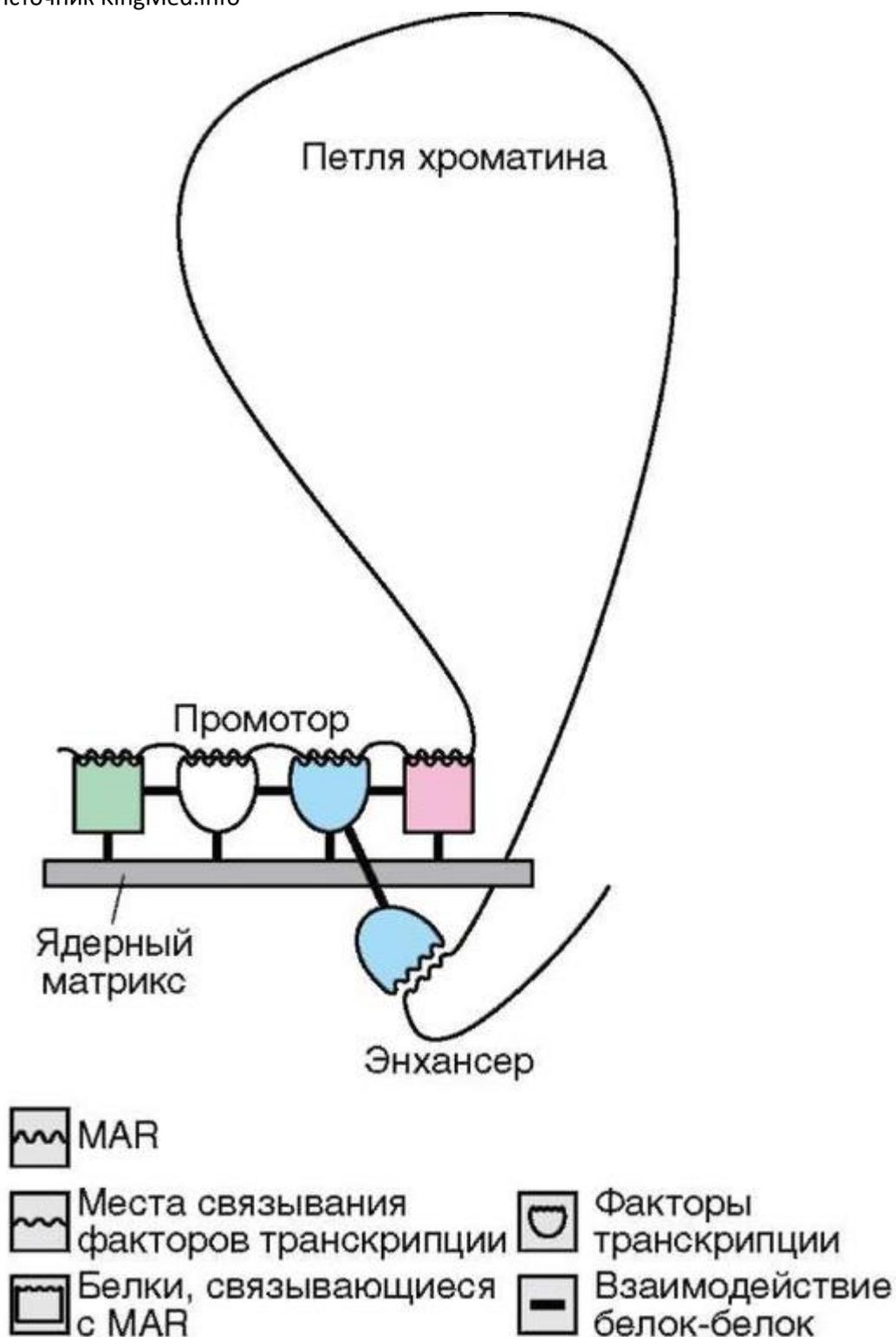


Рис. 2-11. Ядерный матрикс как субстрат для образования транскрипционного инициаторного комплекса: взаимодействие белков матрикса, петли ДНК и общих транскрипционных факторов (схема)

Образование трех из четырех видов рРНК эукариот (у прокариот три вида рРНК) происходит на генах (**рДНК**), занимающих определенные участки или локусы хромосом - **ядрышковые организаторы**. У человека - это хромосомы 13, 14, 15, 20 и 21. В области организаторов формируются ядрышки. Нередко, но не всегда, указанные области соответствуют участкам **первичных** (околоцентромерный гетерохроматин, см. п. 2.4.3.4-в) или **вторичных**

Источник KingMed.info

перетяжек хромосом (см. п. 4.3.4). Количество ядрышек на ядро - величина переменная. Максимальное их количество не превышает числа организаторов. Снижение в сравнении с числом ядрышковых организаторов количества нуклеол объясняется их слиянием. В диплоидных соматических клетках человека при количестве ядрышковых организаторов, равном 10, ядрышко может быть одно.

Совокупное количество ядрышкового материала различается в клетках разного типа или в клетках одного типа при изменении функционального состояния. Оно отражает необходимость обеспечить образование требуемой массы рРНК.

Особенность генов рРНК в том, что они представлены в геноме многими копиями (мультигенные семейства или генные кластеры). У человека на гаплоидный набор хромосом их порядка 200. Для сравнения, количество копий генов рРНК: у мыши - 100, у кошки - 1000, у тритона - 4100, у аскариды - 300, у эвглены - 800, у кукурузы - 8500. Нуклеотидные последовательности рДНК относятся к фракции умеренно повторяющихся. У прокариот отсутствуют структуры, соответствующие ядрышковым организаторам эукариот. Тем не менее сайты рДНК могут быть повторены в геноме бактерии 6-7 раз. Функциональное значение «тиражирования» генов рРНК заключается в повышении надежности генетической системы, обеспечивающей построение в клетках жизненно необходимого аппарата биосинтеза белка.

В области ядрышковых организаторов сначала создается 45S пре-рРНК транскрипт, путем процессинга которого образуются три из четырех видов эукариотической рРНК - 18S, 5,8S и 28S. Размеры даны в единицах Сведберга (S), отражающих скорость оседания (седиментации) макромолекул при ультрацентрифугировании: чем крупнее молекулы, тем быстрее они оседают. В процессинге пре-рРНК транскрипта участвуют малые ядрышковые РНК (от англ. **snoRNA** - **small nucleolar RNA**) или «указывающие РНК» (англ. - «*guide RNA*»). Функции этих РНК окончательно не установлены. Предположительно, они необходимы для химической модификации в специфических точках и конформа-ционных (объемных, трехмерных) изменений пре-рРНК транскрипта в целях обеспечения приготовления из него зрелых рРНК. Особенность многих *snoRNA* в том, что их нуклеотидная последовательность закодирована в ДНК интронов структурных генов, особенно тех, которые контролируют образование рибосомальных белков. Гены четвертого вида рРНК эукариот - 5S - размещаются вне ядрышковых организаторов и повторены в геноме человека порядка 2000 раз.

С помощью электронного микроскопа в ядрышке описаны зоны с преимущественно фибриллярной (нитчатой) и гранулярной (зернистой) структурой. Первые представлены комплексами молекул белка и гигантских молекул пре-рРНК, из которых затем образуются более мелкие молекулы зрелых рРНК. В процессе созревания ядрышковые фибриллы преобразуются в гранулы, которыми представлены зоны с гранулярной структурой. Непосредственно в фибриллярной зоне ядрышка располагаются гетерохроматизированные неактивные сайты рДНК (см. п. 2.4.3.4-в).

2.4.3.4. Хроматин (хромосомы)

В ядре сосредоточена большая часть ДНК эукариотической клетки - 90%. Она распределена между ядерными структурами - **хромосомами** (греч. *chroma* - цвет, *soma* - тело). Морфология хромосом меняется по стадиям клеточного цикла. При вхождении клетки в митоз материал хромосом приобретает плотную упаковку (**митотическая форма**), а вне митоза - рыхлую (**интерфазная форма**). При просмотре в микроскоп гистологических препаратов митотические хромосомы видны как хорошо окрашиваемые основными красителями

Источник KingMed.info

(гематоксилин, краситель Гимза) тельца. Материал хромосом на гистологических срезах в интерфазных ядрах виден как совокупность интенсивно окрашенных основными красителями глыбок, зерен и волоконце - **хроматин** в терминологии классической морфологии. Генетики наполняют этот термин (исторически морфологический) иным содержанием. Под хроматином они понимают вещество хромосомы, как таковое. Исходя из представления о сохранении структурной целостности хромосом в клеточном цикле, подчеркивается, что химический состав хроматина и плотность его упаковки различаются по длине хромосомы в зависимости от стадии этого цикла.

Хромосомы во взаимодействии с внехромосомными механизмами обеспечивают:

- хранение генетической информации;
- использование этой информации для воспроизводства и поддержания клеточной организации и функций;
- регуляцию считывания (транскрипция) наследственной информации;
- удвоение (репликация, самокопирование) генетического материала материнских клеток перед клеточным делением;
- передачу этого материала дочерним клеткам в процессе митоза. Первую из этих функций хромосома выполняет в обеих структурных

формах - митотической и интерфазной, следующие три функции - в интерфазной форме, последнюю - в митотической форме.

Хромосомная организация наследственного материала эукариот создает условия для тонкой регуляции генетических функций, репаративных процессов, минимизирующих объем нарушений молекулярной структуры ДНК, а также для рекомбинации ДНК в ходе мейоза при образовании половых клеток (см. кроссинговер, комбинативная генотипическая изменчивость).

2.4.3.4-а. Химический состав хроматина (хромосом) эукариотической клетки

Большая часть объема хромосом представлена ДНК и белками. Заметные химические компоненты хромосом - РНК и липиды. Среди белков (65% массы хромосом) выделяют гистоновые (60-80% всех белков) и не-гистоновые. Массовые соотношения ДНК : гистоны : негистоновые белки :

РНК : липиды составляют - 1:1:(0,2-0,5):(0,1-0,15):(0,01-0,03). Также

в малых количествах присутствуют полисахариды, ионы металлов (*Ca*, *Mg*) и некоторые другие компоненты. Обеспечение биоинформационно-генетических процессов в клетках связано, в основном, с ядерной ДНК. На долю ДНК митохондрий приходится порядка 10%. Как правило, эукариотическая хромосома содержит одну двойную спираль ДНК, образованную двумя линейными комплементарными друг другу молекулами.

Вместе с тем известны примеры закономерно увеличенного количества ДНК на клетку. К ним относятся **гигантские политенные хромосомы** в клетках слюнных желез насекомых, которые образуются в результате многократной репликации ДНК без расхождения биспиралей (**эндоредупликация**). У плодовой мухи количество таких копий 512-1024. В диплотене профазы первого мейотического деления в ооцитах рыб, земноводных, рептилий и птиц образуются **хромосомы типа «ламповых щеток»** (рис. 2.12), для них характерно образование петель. Петля содержит фрагмент ДНК длиной 5-100 тыс. п.н. Хромосомы типа «ламповых щеток»

отличаются высоким уровнем транскрипции. Кратное гаплоидному увеличение количества ДНК в клетках печени закономерно происходит в постнатальном онтогенезе крыс и ряда других

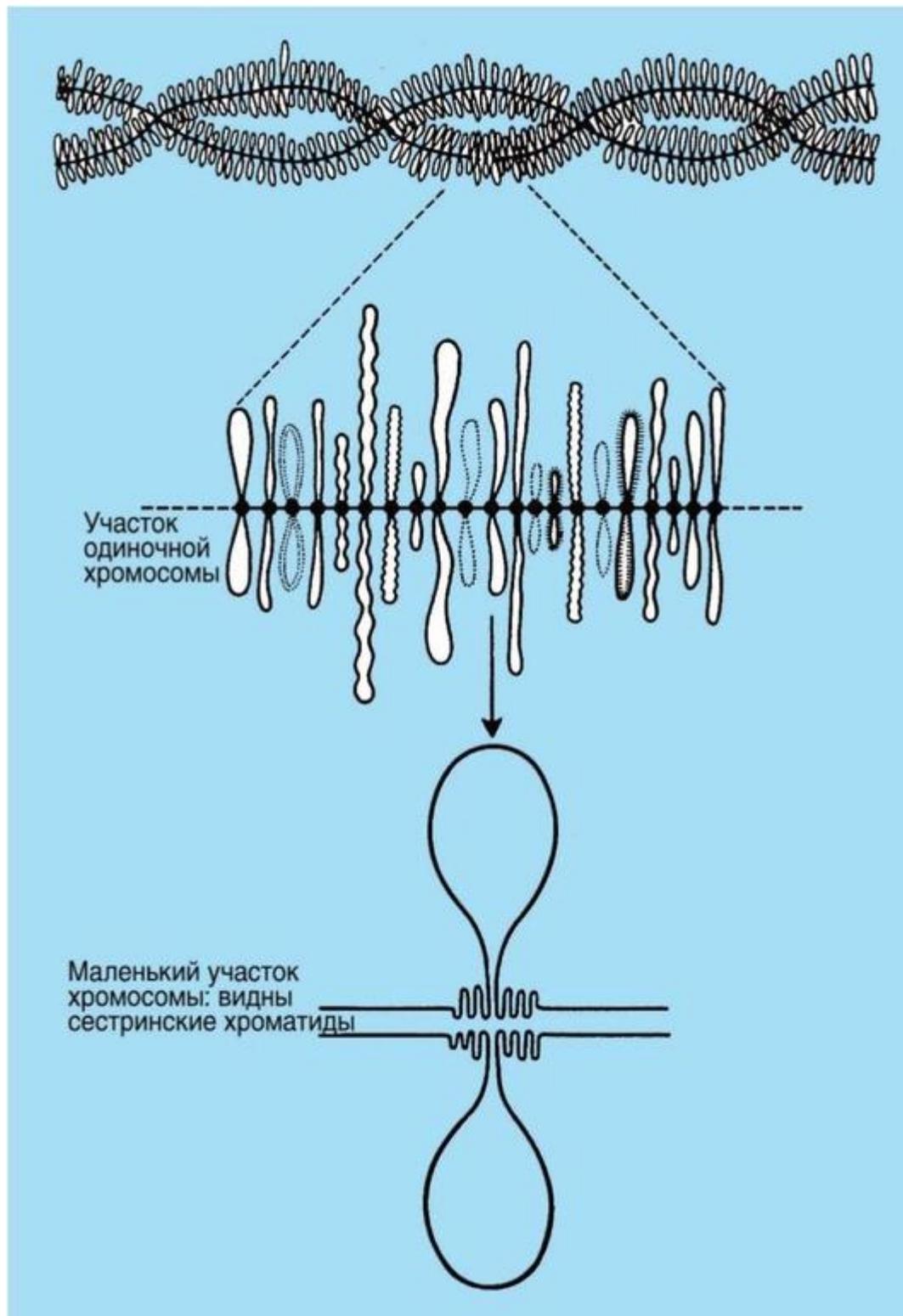


Рис. 2.12. Хромосомы типа «ламповых щеток»

животных - феномен соматической **полиплоидии**. Полиплоидные (тетраплоидные - $4c$, октаплоидные - $8c$, $16c$ и далее, где c - количество ДНК гаплоидного набора хромосом) клетки имеют большие в сравнении с диплоидными ($2c$) клетками размеры и, следовательно, более высокий функциональный потенциал. Если полиплоидное ядро делится и деление не сопровождается цитотомией, то образуется двуядерная полиплоидная клетка с

Источник KingMed.info

оптимизированным в сравнении с одноядерной полиплоидной клеткой соотношением объема и площади поверхности ядер. Полиплоидные клетки - печеночные, нервные, кардиомио-циты - обнаружены и у человека. В овогенезе амфибий наблюдается **амплификация** или временное **увеличение количества генов** рРНК. В диплоидных клетках африканской шпорцевой лягушки число копий этих генов 900, тогда как в диплоиде профазы первого мейотического-го деления в образовании рибосомных РНК принимает участие более миллиона копий генов рРНК. Подсчитано, что без амплификации образование необходимого количества рибосомных РНК и, следовательно, числа рибосом заняло бы порядка 500 лет в сравнении с отпущенным природой периодом в 3-6 мес.

В дополнение к названным выше способам, увеличение количества ДНК может также происходить путем **дупликации** определенного фрагмента нуклеиновой кислоты. Последовательная неоднократная дупликация с дивергентным развитием копий ведет к образованию генных кластеров или мультигенных семейств, связанных с генетическим контролем в принципе одной функции, но в разных условиях. В качестве примера назовем кластер β-глобиновых генов гемоглобина человека (см. п. 2.4.3.4-д). В некоторых случаях механизм дупликации использовался в эволюции для увеличения в геноме количества практически идентичных копий нуклеотидной последовательности, кодирующей макромолекулы, необходимые для выполнения жизненно важных общеклеточных функций: рРНК (см. п. 2.4.3.3), тРНК, гистонов. Дополнительная новая ДНК приобретает также вследствие **включения** в геномы генов **от других организмов** путем **горизонтального (латерального) их переноса**, а также **мобильных генетических элементов (МГЭ)**.

Белки хромосом выполняют функции: защитную, структурную, ре-гуляторную¹, каталитическую, сервисную, опознавательную-сигнальную и ряд других.

¹ Регуляторная роль компонентов хромосом заключается в «запрещении» или «разрешении» считывания информации (транскрипция) с ДНК, в изменении скорости транскрипции и репликации ДНК.

Особое место среди хромосомных белков принадлежит **гистонам**. Проявляя в химическом отношении основные свойства и характеризуясь в целом положительным зарядом (благодаря высокому содержанию аминокислот аргинина и лизина), они образуют ионные связи с отрицательно заряженными фосфатными группами внешней стороны двойной спирали ДНК. В составе **нуклеогистонового комплекса** ДНК менее доступна ферментам нуклеазам, вызывающим ее гидролиз (функция защиты). Гистоны выполняют структурную функцию, участвуя в процессе компактизации хроматина (см. п. 2.4.3.4-б, нуклеосомный уровень компактизации). Нуклеогистоновый комплекс ограничивает доступ к ДНК с целью использовать заключенную в ней генетическую информацию. Формирование инициаторного (стартового) комплекса перед началом транскрипции включает ацетилирование гистонов в промоторной области транскриптона, что, предположительно, облегчает доступ соответствующих ферментов к ДНК (регуляторная функция). Гистоновые белки представлены пятью видами (фракциями): *H1*, *H2A*, *H2B*, *H3* и *H4*.

Число ядерных **негистоновых белков** превышает несколько сотен. Среди них ферменты транскрипции РНК, репликации, репарации и химической модификации ДНК (каталитическая функция). Структурно-регуляторную функцию приписывают негистоновым белкам хромосомного матрикса (скэффолд - см. п. 2.4.3.2). Фиксируя участки двойной спирали (англ. **SAR - Scaffold Attachment Regions**), такие белки удерживают «открытую» конфигурацию хроматина, «разрешающую» доступ к биоинформации ДНК, то есть ее транскрипцию.

Источник KingMed.info

Многие негистоновые белки обнаруживаются в составе хромосом лишь некоторое время в связи с той или иной функциональной задачей. Так, начало процесса репликации ДНК состоит в присоединении к хромосоме иницирующих или «узнающих» белков (см. п. 2.4.5.3), помечающих стартовую точку репликационных (опознавательных-сигнальных) функций. Затем появляются расплетающие биспираль ферменты - х(г)еликаза и топоизомеразы, далее белки **SSB** (англ. **Single Strand Binding Proteins**), стабилизирующие одноцепочечные участки ДНК, белок-активатор праймазы - фермента, катализирующего образование РНК-затравки (РНК-праймера), - и, наконец, ДНК-полимераза. Сборка белковых комплексов - необходимое условие многих процессов с участием ДНК хромосом, включая репликацию и транскрипцию. Так, транскрипция фрагмента ДНК (структурный ген) у эукариот начинается с образования в области промотора гетеробелкового инициаторного комплекса, участниками которого являются так называемые общие

транскрипционные факторы. Без этого невозможны ни «посадка» РНК-полимеразы на ДНК в требуемом месте, ни определение стартовой точки транскрипции (см. п. 2.4.5.5) - сервисная функция.

К категории «временных» относятся цитозольные белки-рецепторы (функционально-транскрипционные факторы), захватывающие сигнальные молекулы, например, стероидные гормоны, в комплексе с которыми они проникают в ядро и которые их активируют (см. п. 2.4.3.1). **РНК хромосом** представлена продуктами транскрипции, еще не покинувшими место синтеза, - непосредственный продукт транскрипции генов или пре-и(м)РНК, пре-рРНК, пре-тРНК транскрипты. 5S РНК, которые «метят» начало и конец фрагментов пре-и(м)РНК транскрипта, соответствующие интронам, чем обеспечивают точность их удаления (сервисная или «конценсусная» функция на уровне пре-и(м)РНК транскрипта). Некоторые виды РНК «временного внутриядерного пребывания» создают условия для основного процесса, выполняя сигнальную функцию. Так, репликация ДНК требует для своего начала образуемой «на месте» РНК-затравки (РНК-праймер), которая по завершении процесса разрушается здесь же в ядре.

2.4.3.4-6. Структурная организация эукариотической хромосомы

На протяжении клеточного цикла **хромосома сохраняет структурную целостность**. В разные фазы цикла наблюдаемые под микроскопом картины меняются. Изменения хромосом при переходах из одной формы структурной организации в другую в клеточном цикле связаны со сменой функциональных приоритетов (см. п. 2.4.3.4). В основе таких переходов лежит процесс **компактизации-декомпактизации (конденсация-деконденсация)** хромосомного материала - хроматина. Суммарная длина вытянутых в нити биспиралей ДНК 46 хромосом человека равна примерно 190 см, тогда как суммарная длина 46 метафазных хромосом, содержащих те же молекулы ДНК в состоянии максимальной компактизации, составляет порядка 180 мкм. Вследствие компактизации при переходе хромосом из интерфазной формы в митотическую суммарный линейный показатель сокращается примерно в 7-10 тыс. раз. Тело человека состоит из 5×10^{13} - 10^{14} клеток и, следовательно, суммарная длина всех биспиралей ДНК в организме людей составляет 10^{11} км. Хотя это почти в 1000 раз больше расстояния от Земли до Солнца, в клетке на долю ДНК приходится менее 1% массы. Выделяют следующие уровни компактизации хроматина (табл. 2.1 и рис. 2.13).

Таблица 2.1. Последовательные уровни компактизации хроматина

Уровень, структура

Биспираль ДНК

1. Нуклеосомный, нуклеосомная нить

2. Нуклеомерный, хроматиновая фибрилла, состоящая из упакованных нуклеосом
3. Хромомерный или петельно-доменный, петли хроматиновой фибриллы
4. Хромонемный, конденсированный участок метафазной хромосомы (одной из хроматид)
5. Хроматидный, целая метафазная хромосома (состоит из двух хроматид - хромосом дочерних клеток)

В образовании нуклеосомной нити диаметром 11 нм (первый уровень компактизации) ведущая роль принадлежит гистонам *H2A*, *H2B*, *H3* и *H4*. Они образуют белковые тела или **коры**, состоящие из восьми молекул (по две молекулы каждого вида). Молекула ДНК комплексуется с белковыми корами, спирально накручиваясь на них. В контакте с кором оказывается фрагмент биспирали в 146 п.н. Свободную от контакта с корами ДНК (протяженность от 15 до 100 п.н. в клетках разных типов) называют **линкерной (связующая)**. Отрезок ДНК порядка 200 п.н. вместе с белковым кором образует **нуклеосому** (рис. 2.14, а). Благодаря описанной организации в основе структуры хроматина находится фибрилла, напоминающая нитку бус и представляющая собой цепочку повторяющихся единиц - нуклеосом (рис. 2.14, б). ДНК генома человека, насчитывающая суммарно $3,2 \times 10^9$ п.н., упаковывается максимально в $1,5 \times 10^7$ нуклеосом. В нуклеогистоновом комплексе имеются области без нуклеосом. Они располагаются с интервалами в несколько тысяч пар нуклеотидов. Им принадлежит важная роль в дальнейшей упаковке хроматина, поскольку они содержат нуклеотидные последовательности, специфически узнаваемые негистоновыми белками. Нуклеосомы важны для осуществления ДНК биоинформационно-генетической функции. Благодаря нуклеосомам в промоторных участках ДНК заблокированы области инициации (начала) транскрипции. Для того чтобы инициатор-ный комплекс возник, нуклеосомы должны быть «вытеснены» из соответствующих фрагментов ДНК.

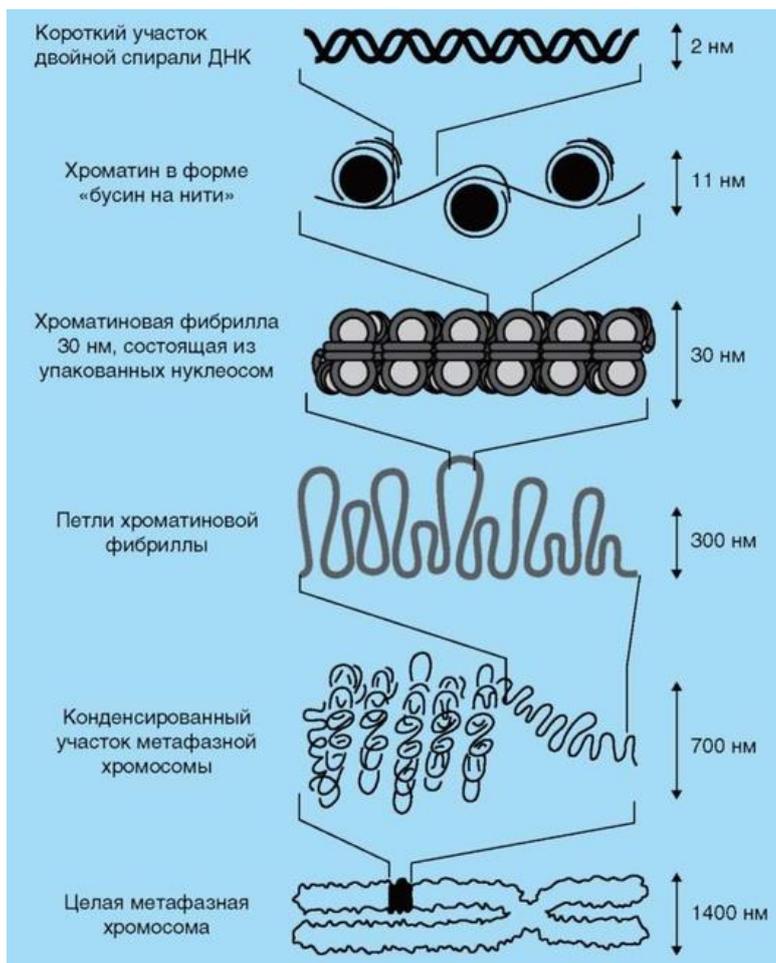


Рис. 2.13. Уровни компактизации хроматина. Старт - биспираль ДНК

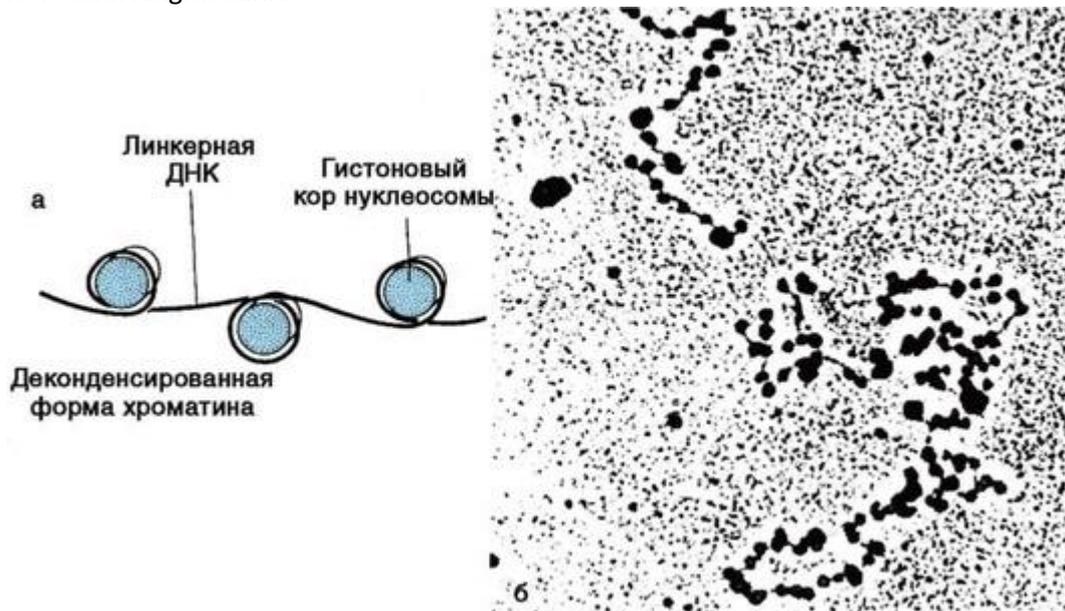


Рис. 2.14. Нуклеосомная организация хроматина: а - молекула ДНК накручена на белковые коры; б - электронная микрофотография эукариотического хроматина: видны нуклеосомы и участки линкерной ДНК

Образование хроматиновой фибриллы диаметром 30 нм (второй уровень компактизации) происходит с участием гистона *H1*, который, связываясь с линкерной ДНК, скручивает нуклеосомную нить в спираль по типу соленоида с шагом в 6-8 нуклеосом (рис. 2.15).

Если главная роль в обеспечении компактизации на первых двух уровнях отводится спирализации, то на следующем петельно-доменном уровне, дающем фибриллы диаметром 300 нм, главное событие заключается в укладке фибриллы диаметром 30 нм в петли (рис. 2.16). В этом процессе активная роль отводится негистоновым белкам. Основания петель «заякорены» в ядерном матриксе. Петля содержит от одного до нескольких генов (**петельный домен**). Длина участка ДНК, равного петле, от 20 тыс. п.н. до 80 тыс. п.н. Инактивация генов сопровождается компактизацией петельного домена в суперсоленоид, а активация - декомпактизацией или «выпетливанием». Хроматиновые фибриллы диаметром 300 нм являются, по-видимому, наиболее типичными структурами интерфазного хроматина.

На следующем уровне компактизации фибриллы диаметром 300 нм, складываясь по длине, превращаются в метафазные хроматиды (хромосомы будущих дочерних клеток) диаметром 700 нм. Эти изменения происходят с хромосомным материалом клеток, вступающих в митоз.

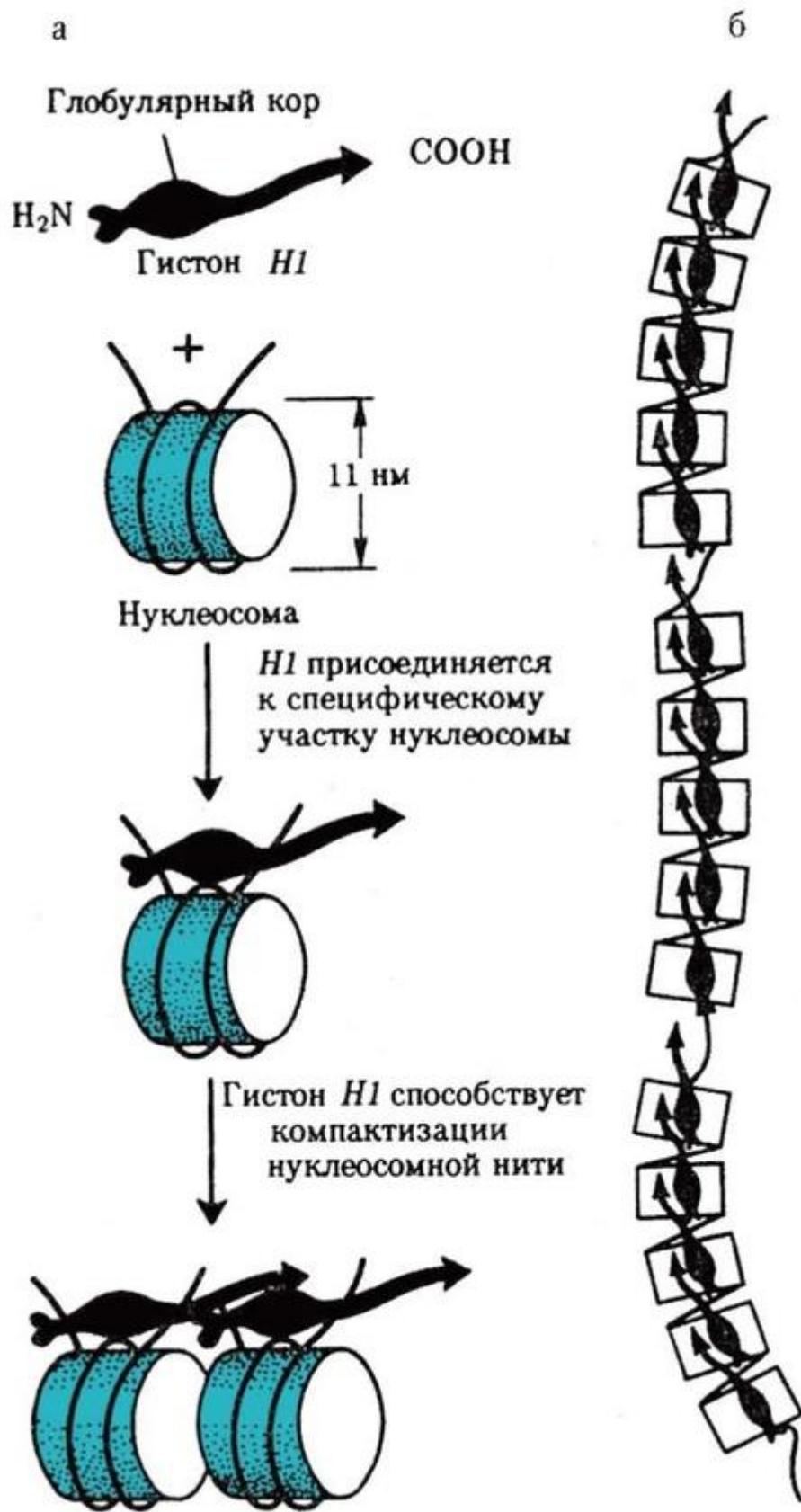


Рис. 2.15. Хроматиновая фибрилла диаметром 30 нм: а - соединение нуклеосом с помощью гистона $H1$; б - упаковка ДНК в хроматиновой фибрилле в виде соленида

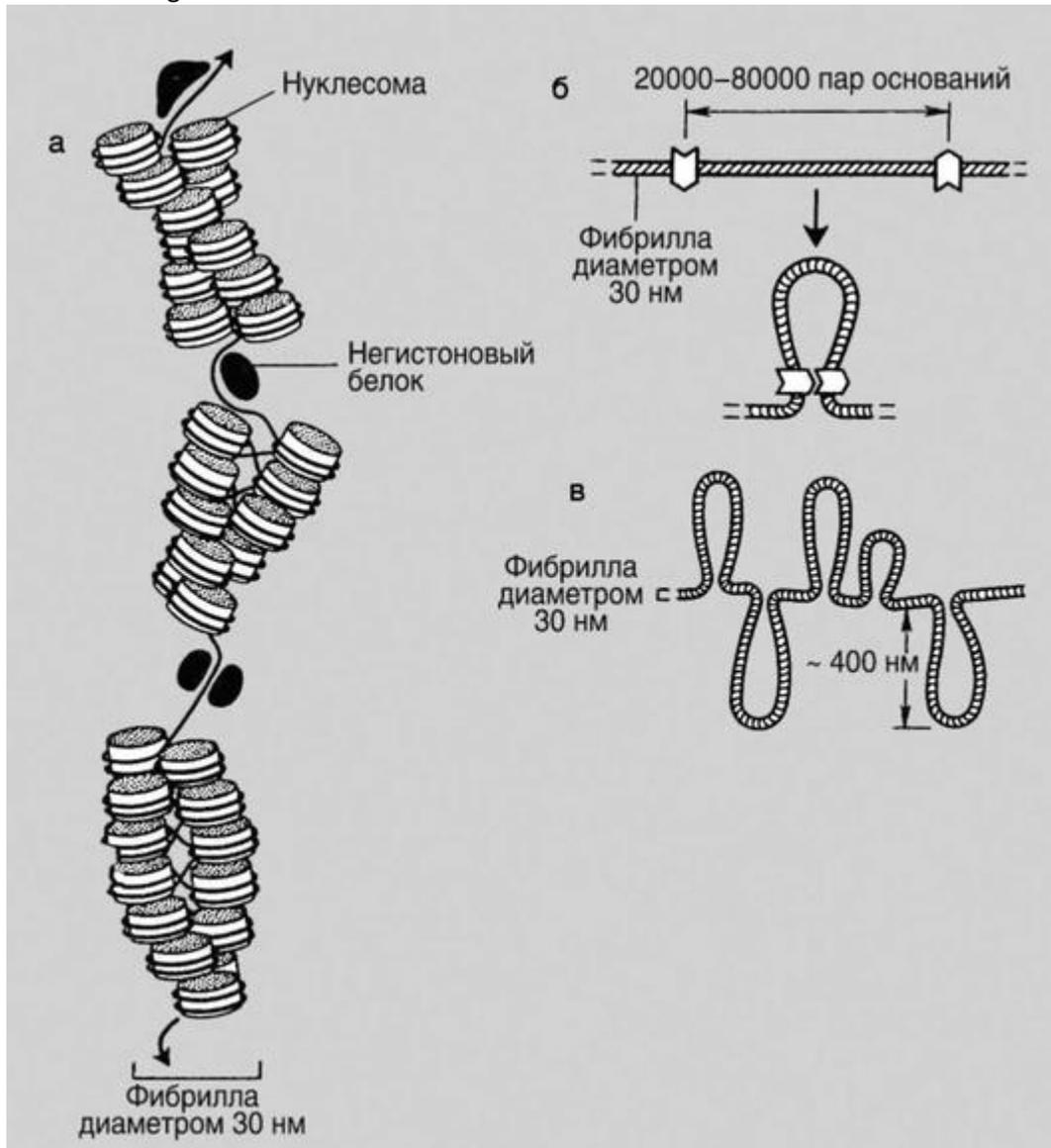


Рис. 2.16. Петельно-доменная структура хроматина: а - хроматиновая фибрилла с присоединенными негистоновыми белками; б - образование петли на участке хроматиновой фибриллы; в - участок метафазной хромосомы

Максимальная степень компактизации достигается на пятом уровне в структурах, известных как метафазные хромосомы с диаметром 1400 нм. В этом состоянии ДНК выключена из биоинформационно-генетических процессов (транскрипция, репликация). Такая структура обеспечивает оптимальное решение задачи транспортировки генетического материала в дочерние клетки в анафазе митоза.

2.4.3.4-в. Гетерохроматин и эухроматин интерфазных хромосом

В зависимости от степени компактизации материал интерфазных хромосом представлен эухроматином и гетерохроматином. **Эухрома-тин** отличается низкой степенью компактизации и, следовательно, неплотной «упаковкой» хромосомного материала. В геноме человека на его долю приходится 2,9 млрд п.н. из 3,2 млрд п.н. Эухроматин представлен, в основном, ДНК с уникальными последовательностями нуклеотидов. Хотя существует ряд механизмов регуляции генной активности с различными точками приложения в биспирали ДНК и хромосоме, общей предпосылкой возможности транскрипции сайтов ДНК считают их расположение в

Источник KingMed.info

эухроматиновой зоне. Гены из эухроматизированного участка хромосомы, оказавшись в гетерохроматизированном участке или рядом с ним, обычно инактивируются.

Гетерохроматин отличается высокой степенью компактизации, то есть плотной «упаковкой» материала хромосомы. Большая его часть представлена умеренно или многократно повторяющимися нуклеотид-ными последовательностями ДНК. К первым относятся мультикопий-ные гены гистонов, рибосомных и транспортных РНК.

Выделяют факультативный и конститутивный (структурный) гете-рохроматин. **Факультативная гетерохроматизация** - инструмент выключения из функционирования групп сцепления (хромосом), геномов или генов на известных стадиях онтогенеза или в соответствующих физиологических условиях. Примером **факультативного гетерохро-матина на хромосомном уровне** служит **тельце полового хроматина (тельце Барра)**, образуемое в клетках организмов гомогаметного пола (у людей - женский) вследствие инактивации одной из двух однотипных половых хромосом (у человека - X). Гены гетерохроматизи-рованной хромосомы X клеток женского организма, кроме восьми, не транскрибируются (феномен **дозовой компенсации** в сравнении с особями гетерогаметного пола: у человека - мужчины, имеющие в клетках при паре половых хромосом XY единичную хромосому X). Один из названных восьми генов активен только на гетерохроматизированной хромосоме X, семь других - на обеих. Некоторые из этих генов участвуют в контроле развития половых желез и фертильности (способность к репродукции) организма женщины. Гетерохроматизация хромосомы X происходит на 16-е сутки эмбрионального периода развития человека. Центр гетерохроматизации и, таким образом, генетической инактивации находится непосредственно в хромосоме X.

Примером **факультативной гетерохроматизации на геномном уровне** служит хроматин ядер зрелых эритроцитов птиц. Полная гете-рохроматизация хроматина в данном случае совпадает с прекращением транскрипции всех генов, включая глобиновые. В зрелых эритроцитах птиц гетерохроматизированы оба генома - материнский и отцовский. У диплоидных самцов мучнистого червеца *Planococcus cirti* гетерохро-матизируются хромосомы отцовского генома, что превращает их в гаплоидных особей. У самок животных этого вида на протяжении жизни активны геномы и матери, и отца.

Факультативная гетерохроматизация затрагивает участки хромосом (блоки генов или отдельные гены). Выбор таких участков может быть связан с направлением клеточной дифференцировки: рисунок хроматина интерфазных ядер клеток разных тканей и органов на гистологических препаратах различается.

Конститутивная гетерохроматизация отличается постоянством локализации гетерохроматизированных участков по длине хромосом и сохранением названного состояния хроматина во времени, например в ряду клеточных поколений. В качестве примера назовем **около(при) центромерные участки хромосом**, в которых располагаются ядрыш-ковые организаторы (см. п. 2.4.3.3), содержащие копии генов рРНК (рДНК). У человека известны четыре вида сайтов рДНК: активно транскрибируемые, потенциально активные (не транскрибируются в клетках определенной специализации), неактивные и «молчащие». Неактивные сайты располагаются в центральной области фибриллярных зон (фибриллярные центры) ядрышка в участках плотной «упаковки» (гете-рохроматин) петель хроматина. Генетически активные сайты рДНК занимают периферию фибриллярных зон. «Молчащие» сайты располагаются вне ядрышек. Предположительно, конститутивная гетерохро-матизация около(при)центромерных участков является инструментом количественной регуляции генетической активности в мультикопийном семействе генов рРНК.

Источник KingMed.info

В составе около(при)центромерного гетерохроматина с постоянством обнаруживается **сателлитная ДНК** (см. п. 2.4.3.4-д). Это короткие тан-демно (друг за другом) расположенные нуклеотидные последовательности, не выполняющие кодирующей функции и повторенные от десятков тысяч до миллионов раз. Генетические функции сателлитной ДНК, видимо, разнообразны, и выясняются.

Роль конститутивной гетерохроматизации в функционировании генома определяется в большей мере не состоянием ДНК, а белками. Об

этом говорят мутации, ослабляющие или, наоборот, усиливающие степень инактивации генов эухроматиновых участков при попадании их в зону конститутивного гетерохроматина (см. эффект положения).

2.4.3.4-г. Теломерные участки молекул ДНК: организация и репликация. Функциональный аспект

Конститутивная гетерохроматизация характеризует **теломерные (концевые) участки хромосом**. Длина этих участков различается у разных видов животных: 10-15 тыс. п.н. в клетках эмбрионов человека и порядка 100 тыс. п.н. - в клетках мыши. Теломерные участки ДНК человека от 3'-конца образованы короткими тандемными повторами ТТАГГГ. За ними следуют более протяженные повторяющиеся последовательности и далее идет участок также повторяющихся последовательностей, уникальных для каждой хромосомы. Комплекс ДНК со специфическими белками на концах хромосом называется «**теломера**» .

Теломеры участвуют в прикреплении хромосом к структурам ядерного матрикса и, возможно, к ядерной ламине (плотной пластинке), чем обеспечивается пространственная ориентация хромосом в объеме ядра. В зи-готене профазы первого деления мейоза направленное перемещение по внутренней поверхности ядерной оболочки концов гомологичных хромосом способствует их конъюгации и далее (пахитена профазы первого деления мейоза) кроссинговеру. В метафазе митоза сестринские хрома-тиды удерживаются в парах, в том числе, благодаря взаимодействию их теломер. В анафазе митоза это взаимодействие ослабевает и хроматиды, теперь уже как самостоятельные хромосомы, расходятся в дочерние клетки. Известна мутация в области теломерной ДНК, проявляющаяся фeno-типически в нерасхождении хромосом в анафазе. Теломеры «защищают» молекулы ДНК от разрушающего действия ферментов.

Специфическая черта теломер, отражающая «технические» особенности репликации ДНК (необходимость для начала процесса РНК-затравки), состоит в том, что в каждом репликационном цикле (период S интерфазы) концы и материнской, и дочерней молекул ДНК укорачиваются, в среднем, на 50 нуклеотидов. Недорепликация ДНК на концах хромосом не является фатальной благодаря наличию в клетках макро-молекулярного комплекса с ферментативной активностью - **теломера-зы**. Последняя функционирует как обратная транскриптаза, достраивая недореплицируемые участки ДНК.

Концевая недорепликация ДНК как неизбежное («техническое») событие благодаря тому, что теломеры лишены структурных (смысло-

вых, кодирующих) генов, не наносит вреда в виде биоинформационных потерь (функция буфера). Известны примеры, когда при участии теломеразы путем образования теломерной ДНК «закрываются» концы на месте случайных разрывов хромосом. Это сохраняет оторвавшиеся участки хромосом функционирующими, хотя бы частично. Такое наблюдается у больных α -талассемией - наследственным заболеванием, связанным с мутацией в кластере α -глобиновых

Источник KingMed.info

генов в виде разрыва в длинном плече хромосомы 16. Транскрипционная активность генов вблизи теломер снижена (см. эффект положения). При укорочении те-ломер из-за недорепликации ДНК названный эффект снимается и гены активируются.

Теломеразный механизм, активный в клетках эмбриона, не функционирует во многих типах клеток взрослого организма, и потери концевой ДНК в репликационных циклах не восполняются. Укорочение хромосом до известного предела приводит к выходу клетки из пролиферативного цикла с единственной перспективой погибнуть (терминальная дифференцировка). Исключение составляют клетки зародышевого пути - половые клетки. В концевой недорепликации ДНК (**маргинотомия**) видят причину лимита Л. Хейфлика . высказавшего на основании результатов исследований динамики клеток в культуре (вне организма, *in vitro*) мысль о конечности числа делений клеток многоклеточного организма, с чем фундаментальная геронтология пыталась связать закономерные возрастные изменения - теломерная теория старения. Современные исследования внесли свои уточнения. Теломеразная активность сохраняется или восстанавливается у взрослых особей в интенсивно делящихся клеточных популяциях, а также в стволовых клетках. Кроме того, активная теломераза - отличительная черта клеток большинства злокачественных новообразований.

2.4.3.4-д. Функционально-генетическая организация ДНК. Проект «Геном человека». От структурной геномики к геномике функциональной и сравнительно-эволюционной

ДНК генома человека насчитывает $3,2 \times 10^9$ п.н. (по другим данным, $3,165 \times 10^9$ п.н. или 3×10^9 п.н.). На долю **смысловых (кодирующих, структурных)** нуклеотидных последовательностей для полипептидов в нем приходится 1,2% ДНК. Если присовокупить смысловые последовательности для нетранслируемых в полипептиды РНК - рибосом-ных, транспортных и др., то суммарное количество ДНК, выполняющее

биоинформационно-генетическую функцию непосредственно, в геноме человека составляет порядка 3%.

Впервые в конце 70-х гг. XX в. была полностью определена последовательность нуклеотидов ДНК генома фага ϕ (греч. ϕ - *phi*) X174 - 5375 п.н., 9 генов. Рубеж XX-XXI вв. ознаменован реализацией проекта «Геном человека», состоящего в определении последовательности нуклеотидов (**секвенирование**) в молекулах ДНК всех хромосом человека.

На начало 2001 г. информации оказалось достаточно, чтобы представить организацию человеческого генома в целом (область интереса **структурной геномики**).

Транскрибируемая часть составляет 28-30% генома, но **транслируется до белков** не более 5% (**экзон-ная порция**). 45-50% ДНК генома представлено **повторяющимися последовательностями**. Из них 45% приходится на «**избыточную**» (она же «**паразитическая**», «**эгоистическая**») ДНК. Приведенные эпитеты возникли потому, что соответствующие участки нуклеиновой кислоты, не выполняя видимой генетической функции, реплицируясь в обязательном порядке, сохраняются в клеточных геномах в ряду поколений. Науке еще предстоит раскрыть функции многих участков генома (область интереса **функциональной геномики**).

В области структурной геномики не все доведено до необходимого уровня ясности: доля ДНК, участвующей в синтезе белков непосредственно, оценивается разными исследователями и в 1,2%, и в 3%, и в 5%.

В геноме человека структурные (смысловые, кодирующие) гены расположены по длине хромосом блоками, между которыми находятся протяженные участки **некодирующей**

Источник KingMed.info

межгенной ДНК. От участков «избыточной» ДНК гены отделены « **монотонными**» **последовательностями из Г-Ц пар** до 30 тыс. п.н. длиной. Допускается, но не доказано бесспорно, что такие участки имеют отношение к регуляции активности смысловых генов.

В ДНК обнаруживаются **уникальные нуклеотидные последовательности**, представленные в геноме в единственном экземпляре, а также повторяющиеся последовательности: 3% ДНК - это **короткие повторы**, 5% - **длинные**. Среди повторяющихся нуклеотидных последовательностей есть, во-первых, **тандемные повторы**, когда соответствующие участки ДНК следуют друг за другом по типу «голова-хвост», и **диспергированные повторы**, когда участки-повторы разбросаны по геному. Во-вторых, в зависимости от числа копий имеются **высоко-повторяющиеся** (от десятков или сотен тысяч до миллионов копий), **среднеповторяющиеся** (тысячи и десятки тысяч копий) и **слабопов-**

торящиеся (единицы, десятки или сотни копий) последовательности. В-третьих, длина повторяющихся последовательностей варьирует от сотен и реже тысяч до 2-10 нуклеотидов. В-четвертых, относительно небольшая доля повторов представлена идентичными последовательностями, тогда как большая их часть характеризуется наличием в копиях повторяющейся последовательности нуклеотидных замен, выпадений (делеций) и вставок (инсерций).

В современном генетическом словаре есть термин **сателлитная ДНК**. Она представлена большим числом копий коротких нуклеотидных фрагментов.

Выделяют **микросателлитные** (длина повторяющегося фрагмента 1-4 п.н.)

и **минисателлитные** (длина 4-6 п.н.) **повторы**. К последним относятся теломерные повторы (см. п. 2.4.3.4-г). У представителей ряда видов повторяющиеся единицы теломерной ДНК имеют идентичный нуклеотидный состав (у человека - ТТАГГГ), у других нуклеотидный состав различается. Теломерные повторы относятся к категории тандемных.

В геноме животных и человека имеются **кластеры** генов, возникновение которых в эволюции связывают с неоднократной дупликацией предковой нуклеотидной последовательности.

Молекулярная дивергенция членов такого кластера, например, вследствие нуклеотидных замен, с последующим отбором вела к возникновению совокупностей структурных (смысловых) генов со «скромными» различиями по нуклеотидному составу, кодирующих в принципе один и тот же полипептид, но с определенными функциональными особенностями. В качестве примера приведем β -глобиновый кластер, расположенный у человека на коротком плече хромосомы 11, члены которого обуславливают экспрессию β -полипептида гемоглобина: эмбриона - ген ϵ , плода - гены $A\gamma$ и $G\gamma$, взрослого - гены δ и β . Кластерная организация характеризует гены, контролирующие синтез рибосомных и транспортных РНК, гистоновых белков. Здесь, однако, имеет место многократный повтор стереотипной нуклеотидной последовательности. Кластеры смысловых (кодирующих, структурных) генов обозначают как **мультигенные семейства**.

Диспергированные повторы образуют несколько семейств.

Это **короткие** или **SINE** (англ. *Short Interspersed Nucleotide Elements*) **повторы**. Представителем этого семейства является Alu-повтор (300 п.н., высоко-повторяющаяся последовательность с числом копий у человека 10^5 - 10^6 на геном. Alu-повтор встречается в интронах, межгенной и сателлитной ДНК). У млекопитающих есть

семейство **длинных** или **LINE** (англ. *Long Interspersed Nucleotide Elements*) **повторов** (не более 6-7 тыс. п.н.). Отдельные члены семейства различаются последовательностью нуклеотидов. Это среднеповторяющиеся последовательности с числом копий у человека 10^3 - 10^5 на геном. К **LINE**-повторам относятся **ретротранс-зоны (МГЭ, или «прыгающие» генетические элементы)**, в

Источник KingMed.info

структуре которых имеется ген обратной транскриптазы (см. теломеразный ферментный комплекс, п. 2.4.3.4-г).

Нуклеотидные повторы обнаруживаются в **кодирующей ДНК**. Так, особенность $\alpha 2$ -пептида коллагена I типа (кожа, сухожилия, кости, строма внутренних органов) - это повтор из аминокислот пролина, ок-сипролина и глицина, которым соответствуют повторы соответствующих кодонов в экзонах коллагенового гена *Colla I*. Благодаря названным аминокислотным повторам достигается плотная «упаковка» пептидов в коллагеновых волокнах.

Повторы не типичны для ДНК прокариот, которая представлена почти исключительно уникальными последовательностями.

Сведения о различных категориях нуклеотидных последовательностей эукариотического генома, которыми располагает современная наука, фрагментарны, нередко противоречивы и недостаточны для того, чтобы однозначно оценить их участие в процессах жизнедеятельности клеток, индивидуальном и историческом развитии живых форм.

Наряду со структурной и функциональной геномикой, интенсивно развивается **сравнительная геномика**, имеющая целью, если говорить о человечестве, конкретизировать генетический полиморфизм и особенности гено(аллело)фондов различных популяций, народностей, расовых и этнических групп, а также сопоставить геномы представителей различных таксонов живых существ (включая инфекционные и паразитарные агенты).

Внимания заслуживают **однонуклеотидные замены**, с которыми связывают особую разновидность генетического полиморфизма (многообразия) - однонуклеотидный генетический полиморфизм (**ОНП**, англ. **SNP** - **Single Nucleotide Polymorphism**). Будучи распространенными (встречаются через каждые 1-2 тыс. п.н., в геноме человека их $3,2 \times 10^6$), они играют важную роль в наследственном полиморфизме людей. Так как примерно половина ($1,5 \times 10^6$) однонуклеотидных замен в геноме человека приходится на экспрессируемую (смысловая, кодирующая, транслируемая) часть генома, их идентификация используется в целях картирования генов на хромосомах, молекулярной диагностики наследственных болезней, изучения генетической предрасположенности к мультифакториальным болезням.

2.4.3.4-е. Эволюция генома

Как у прокариот, так и у эукариот носителями генетической информации являются нуклеиновые кислоты и белки, а способы ее кодирования в биоинформационных макромолекулах совпадают. В связи с этим предполагают, что геномы этих типов организмов являются результатом дивергентной эволюции от общего предка. На уровне **предково-го генома** уже, видимо, были решены задачи самовоспроизведения на основе репликации ДНК, записи информации в виде последовательности триплетов нуклеотидов (нуклеиновые кислоты) и аминокислот (белки), а также универсальности генетического кода. Способность к репликации (самосохранение через самовоспроизведение) оформилась в эволюции раньше, чем функция кодирования. С появлением функции кодирования стало возможным на биоинформационной основе генотипов создание фенотипов. Фенотипы становятся объектом действия естественного отбора, и процесс исторического развития (эволюция) приобретает приспособительную и прогрессивную направленность. Появляются предпосылки для коэволюции.

Еще одна предполагаемая характеристика предкового генома - наличие избыточной ДНК. На заре эволюции живых форм в условиях, когда главные составляющие потока биоинформации (механизмы репликации, транскрипции, трансляции) были несовершенны, присутствие избыточной ДНК создавало возможность «эволюционного маневра» в виде наращивания доли

Источник KingMed.info

кодирующих (смысловых, структурных) нуклеотидных последовательностей и, таким образом, увеличения разнообразия фенотипов, тестируемых отбором на выживаемость.

Предположительно, расхождение про- и эукариотического геномов от общего предка началось с момента, когда в связи с возросшей надежностью потока биоинформации дальнейшее приращение объема смысловых (кодирующих, структурных) последовательностей перестало быть критическим для обеспечения выживаемости в разнообразных средах.

Эволюционный путь к **геному современных прокариот** состоял, видимо, в уменьшении размеров и «упрощении» за счет освобождения от избыточной ДНК. Этот путь в сочетании с коротким временем генерации прокариотических организмов (десятки минут) и их гаплоидностью обеспечивает выживание за счет появления в популяциях «перспективных» мутантов, среди которых есть отвечающие новым требованиям среды обитания, и быстрой смены поколений.

Для прокариотических геномов характерен полицистронный формат организации единиц транскрипции, представленных оперонами.

При этом цистроны (по существу, гены), собранные в одном опероне, например, лактозном, контролируют экспрессию белков, необходимых для обеспечения отдельных этапов конкретного биохимического пути (см. п. 2.4.5.6).

Эволюционный путь к **геному современных эукариот** состоял в увеличении размеров (количества ДНК), в т.ч. за счет «мобилизации» уже имевшихся некодирующих нуклеотидных последовательностей. Ставка была сделана на усложнение структуры генетического аппарата клеток на надмолекулярном уровне. Все это служило оптимизации и расширению способов использования генетической информации, повышению надежности биоинформационных процессов, совершенствованию механизмов их регуляции. Вспомним характерные черты эукариотического генома - линейная форма молекул ДНК, существование ДНК в виде нуклеогистонового комплекса, две структурные формы хромосом (митотическая и интерфазная), наличие эу- и гетерохроматина, распределение ДНК по хромосомам - структурам, открывшим возможности тонкой регуляции генетических функций и использования биоинформации частями, а также точное качественное и количественное воспроизведение ДНК в дочерних клетках при клеточном делении (митоз) в условиях увеличенного количества наследственного материала. Диплоидность эукариотических клеток послужила предпосылкой образования резерва наследственной изменчивости. Эукариотические клетки с их сложной организацией приобрели способность к формированию многоклеточных живых конструкций.

Учитывая гипотезу о происхождении эукариот от прокариот, интересны материалы сравнительно-эволюционной геномики и протеомики. Оказалось, что структурные (смысловые, кодирующие, транслируемые) гены белков транскрипции и трансляции эукариот гомологичны генам наиболее древних микроорганизмов из группы *Archaea*, а гены метаболических белков - генам микроорганизмов из группы *Bacteria*, что рассматривается как аргумент в пользу симбиотической гипотезы происхождения эукариотической клетки, а также предположения о горизонтальном переносе генов из органелл в ядро.

Сравнение секвенированных геномов одноклеточного эукариота *Saccharomyces cerevisiae* (дрожжи) и многоклеточного эукариота *Caenorhabditis elegans* (круглый червь) указывает на наличие как общих генов, характеризующих эукариотность обоих организмов, так и генов, связанных с многоклеточностью, присутствующих только у червя. Это, в частности, гены, кодирующие белки межклеточного общения и клеточ-

Источник KingMed.info

ной адгезии, а также контролирующие программированную клеточную гибель - апоптоз. В геноме червя порядка 15% генов собраны в опероны. Транскрипция всех генов оперона «запускается» с одного промотора, образуется общий пре-РНК транскрипт. Вместе с тем, в отличие от прокариот, для которых оперонная организация генома есть правило, у *C. elegans* гены одного оперона не обязательно связаны функционально и могут транслироваться независимо друг от друга.

Согласно морфофизиологической теории эволюции и теории филэмбриогенезов А.Н. Северцова, эволюционно значимые изменения затрагивают эмбриогенез и происходят в форме ароморфозов (начальные фазы процесса индивидуального развития), если речь идет о появлении на арене жизни принципиально нового типа структурно-функциональной организации. Известно беспозвоночное низшее хордовое *Ciona intestinalis* (подтип Личиночно-хордовые, или *Urochordata*) с полностью секвенированным геномом. Сравнительная геномика говорит о том, что в геномах высших хордовых (подтип Позвоночные, или *Vertebrata*) изменения касаются гомеозисных генов *Hox*, определяющих эмбриогенез. Если у *C. intestinalis* имеется один кластер из 9 генов *Hox*, то у позвоночных животных таких кластеров несколько, причем в каждом по 13 генов.

2.4.4. ЦИТОПЛАЗМА КЛЕТКИ

В **цитоплазме** размещены рабочие механизмы клетки. Рабочими эти механизмы могут быть названы потому, что они обеспечивают превращение «потенциальной» биологической информации нуклеиновых кислот (ДНК, и(м)РНК) в действующую (актуализированную) - белков - в процессе их синтеза, извлечение из веществ, поступающих в клетку, энергии и фиксацию ее в молекулах АТФ, образование пула («запаса») низкомолекулярных предшественников, необходимых для внутриклеточных синтезов, пространственно-временную организацию биохимических реакций синтеза (анаболизм) и распада (катаболизм) веществ в клетке.

В цитоплазме выделяют основное вещество, цитоскелет, включения и органеллы.

2.4.4.1. Основное вещество

Основное вещество цитоплазмы (матрикс, гиалоплазма), заполняя пространство между плазмалеммой, ядром и другими внутриклеточ-

точными структурами, представляет собой внутреннюю среду клетки. Белковый состав основного вещества разнообразен: ферменты гликолиза, обмена сахаров, липидов, азотистых оснований, аминокислот. В гиало-плазме находятся белки-субъединицы, из которых путем полимеризации собирается ряд цитоплазматических структур, например, тубулины, из которых строятся микротрубочки. На долю белков основного вещества приходится 20-25% от общего количества белка эукариотической клетки. В прокариотических клетках, в основном, лишенных мембран, эта цифра приближается к 50%. В гиалоплазме откладываются запасные питательные вещества - полисахариды (например, гликоген), жировые капли. Химическим составом и организацией гиалоплазмы определяются осмотические и буферные свойства клетки. По физико-химическим свойствам основное вещество цитоплазмы является сложной коллоидной системой, способной к обратимым гель-золь переходам, функциональное значение которых освещено ниже (см. п. 2.4.10).

2.4.4.2. Цитоскелет

Цитоскелет (внутриклеточный скэффолд) образован сетью из микротрубочек (25 нм), актиновых (6 нм) и промежуточных (10 нм) микрофибрилл (рис. 2.17). Он выполняет каркасную (опорную) функцию, участвует во внутриклеточных транспортах и связан с некоторыми видами

Источник KingMed.info

двигательной активности клеток (амебоидное движение). От состояния цитоскелета зависит прикрепление клеток к внеклеточным структурам. Ослабление контакта с такими структурами - одно из условий подвижности и метастазирования некоторых видов опухолевых клеток.

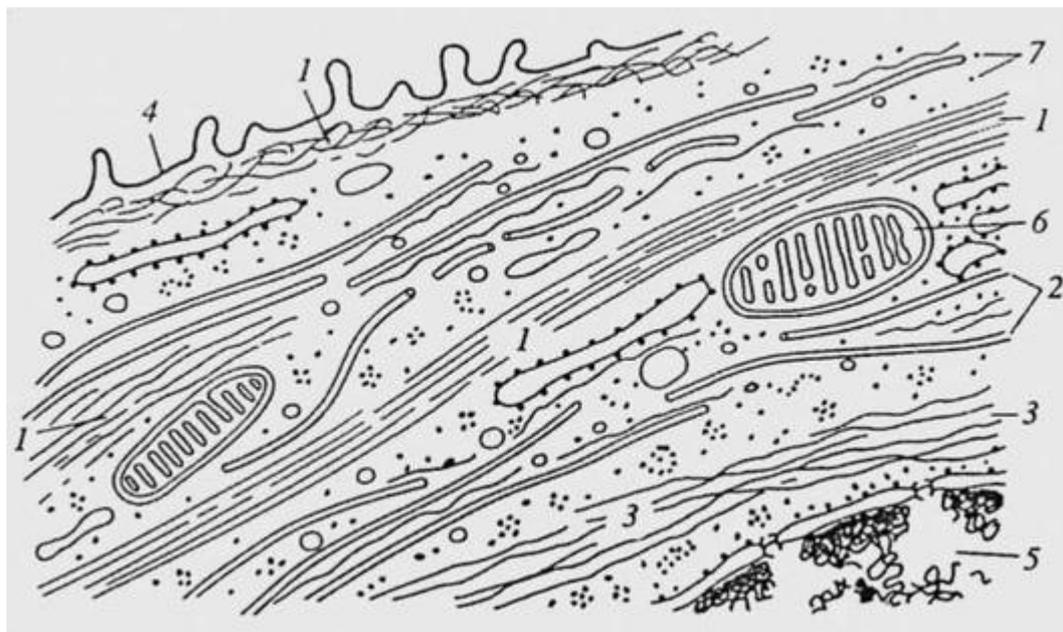


Рис. 2.17. Цитоскелет эукариотической клетки: 1 - микрофиламенты; 2 - микротрубочки; 3 - промежуточные филаменты; 4 - плазматическая мембрана; 5 - ядро; 6 - митохондрии; 7 - рибосомы

2.4.4.3. Цитоплазматические включения

Включения (рис. 2.18) - относительно непостоянные компоненты цитоплазмы, которые являются либо запасными питательными веществами (жир, гликоген, желток яйцеклетки), либо продуктами для нужд организма, приготовляемыми клеткой и подлежащими выводу из нее (секреты желез), либо балластными веществами (пигмент изнашивания или липофусцин).

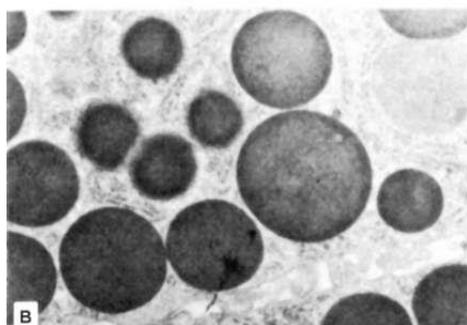
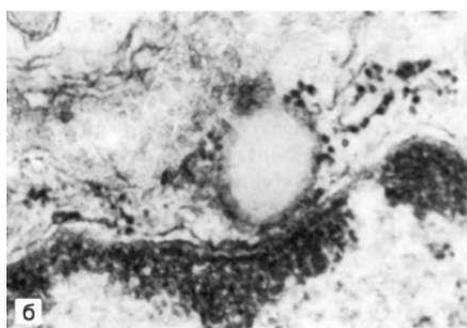
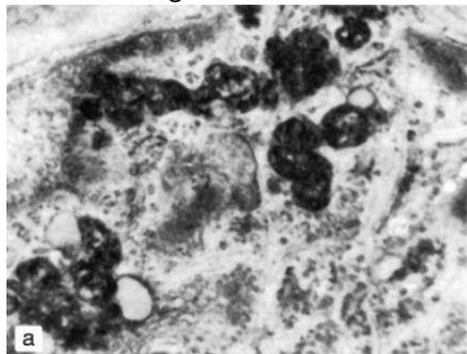


Рис. 2.18. Цитоплазматические включения эукариотической клетки: а - липофусцин; б - липидная капля; в - гранулы секрета

2.4.4.4. Органеллы эукариотической клетки

Органеллы (органойды в

терминологии классической цитологии) - постоянные структуры цитоплазмы, выполняющие в клетках жизненно важные функции. Они имеют мембранное или безмембранное строение. К органеллам безмембранного типа относятся микротрубочки и структуры, основу которых они составляют (базальные тельца ресничек и жгутиков, центриоли), микро-филаменты и микрофибриллы, рибосомы. Мембранные органеллы представляют собой «ячейки» или компартменты, отличающиеся по химическому составу, биохимическим процессам и, следовательно, функциям. Для некоторых из мембранных цитоплазматических структур характерно наличие двух отграничивающих мембран (митохондрии, хлоропласты растительных клеток), тогда как для других - одной (лизосомы, пероксисомы). Предположительно, двумембранные органеллы имеют симбиотическое происхождение (см. п. 1.10), тогда как одномембранные возникали путем отделения («от-шнуровки») от плазмалеммы или эндоплазматической сети в виде вакуолей.

Наряду с **органеллами общего значения**, которые присутствуют в клетках всех типов, выделяют **специальные органеллы**. Последние в значительном количестве встречаются в клетках, специализированных к выполнению конкретной функции, тогда как в других типах

Источник KingMed.info

клеток их количество невелико или они отсутствуют вовсе. К специальным органеллам относят **микроворсинки** всасывающей поверхности эпителиальных клеток кишечника, **реснички** мерцательного эпителия трахеи и бронхов, **миофибриллы** скелетной или сердечной мышц, **синапти-ческие пузырьки**, транспортирующие вещества-переносчики (медиаторы) нервного возбуждения с одной нервной клетки на другую или на исполнительную клетку рабочего органа.

К органеллам общего значения относят вакуолярно-канальцевую систему цитоплазмы, включающую шероховатую и гладкую цито(эндо)плазматическую сеть (ретикулум) и связанные с ней происхождения и функционально везикулы (относительно мелкие пузырьки), вакуоли (относительно крупные пузырьки) и цистерны (уплощенные внутритрицитоплазматические полости), пластинчатый комплекс Гольджи, лизосомы, пероксисомы, микротельца. В эту же группу включают рибосомы и полисомы, митохондрии, микротрубочки и микрофиламенты, центриоли клеточного центра (для животных клеток). В растительных клетках выделяют хлоропласты (содержат пигмент фотосинтеза хлорофилл). В клетках растений обнаруживаются структуры с общим названием пластиды. Среди них выделяют лейкопласты (лишены пигмента), хромопласты (содержат красящие пигменты), амилопласты (содержат крахмал). Между различными формами пластид возможны переходы.

Новейшая клеточная биология вносит свой вклад в расширение ассортимента общеклеточных органелл. О протеасомах, в которых разрушаются «дефектные» полипептиды, сказано выше (см. п. 2.4.1), в процессинге пре-и(м)РНК транскрипта принимает участие мультигете-робелковый комплекс - сплайсосома (см. п. 2.4.5.5).

2.4.4.4-а. Вакуолярно-канальцевая система цитоплазмы

Вакуолярно-канальцевая система образована сообщающимися или располагающимися по отдельности трубчатыми (канальцы, ту-булы), а также уплощенными (цистерны) полостями, ограниченными мембранами. Нередко цистерны имеют пузырьвидные расширения. В системе выделяют шероховатую и гладкую цито(эндо)плазматическую сети.

Особенность **шероховатой (гранулярной) сети** состоит в прикреплении к ее мембранам рибосом (полисом). В качестве главной она выполняет функцию образования белков, преимущественно функционирующих вне клетки, например секретлируемых клетками экзокринных желез. В области шероховатой сети происходит синтез и сборка белков и липидов клеточных мембран. Плотные упакованные в слоистую структуру цистерны гранулярной сети являются участками наиболее активного белкового синтеза - **эргастоплазма**.

Мембраны **гладкой эндоплазматической сети** лишены рибосом (полисом). Функционально эта сеть связана с обменом углеводов, жиров и других веществ небелковой природы, например, стероидных гормонов в клетках половых желез и коркового вещества надпочечников. В участках цитоплазмы печеночных клеток, богатых структурами гладкой сети, разрушаясь, обезвреживаются токсические вещества и ряд лекарств (снотворные из группы барбитуратов). В канальцах и пузырьках гладкой цитоплазматической сети поперечно-полосатой мускулатуры сохраняются (депонируются) ионы кальция, играющие важную роль в процессе мышечного сокращения.

Вакуолярно-канальцевая система выполняет транспортную функцию, в частности, в отношении белков лизосом, пероксисом, мембран и тех, которые предназначены для вывода из клетки. Все белки вне зависимости от места их конечной локализации в клетке образуются на рибосомах (полисомах). Белки, которые подлежат транспорту с участием эндоплазматической сети, имеют **лидерную последовательность** длиной 25 ± 11 аминокислот,

Источник KingMed.info

распознаваемую «**узнающими сигнал» частицами** цитоплазмы. Соединение двух названных элементов означает прекращение наращивания на рибосоме полипептида и прикрепление комплекса к соответствующему рецептору мембраны эндо-плазматической сети. В зоне прикрепления формируется **полипептид транслоцирующая пора (транслокон)**, через которую пептид проникает в просвет канальца. Здесь полипептид гликозилируется путем присоединения олигосахаридов и далее поступает в **транспортные**

пузырьки, отшнуровывающиеся от безрибосомных участков эндо-плазматической сети. Пузырьки переносят полипептиды в пластинчатый комплекс Гольджи.

2.4.4.4-6. Пластинчатый комплекс Гольджи

Пластинчатый комплекс Гольджи (аппарат Гольджи в терминологии классической цитологии) образован совокупностью разбросанных по цитоплазме или локализующихся в приядерной зоне диктиосом числом от нескольких десятков до нескольких сотен или тысяч на клетку. **Диктиосома** (рис. 2.19, а) представлена «стопкой» из 3-12 уплощенных дискообразных **цистерн**, от краев которых отшнуровываются мелкие пузырьки (**везикулы**). Локальные расширения цистерн дают более крупные пузырьки (**вакуоли**). Функция пластинчатого комплекса состоит в «сортировке» белков, поступающих из эндоплазматического ретикула (см. п. 2.4.4.4-а), в зависимости от их дальнейшего места назначения. Здесь же происходит химическая модификация белков. Секретируемые белки разделяются (сегрегируются) на «порции» с их «упаковкой» в мембранную оболочку. Такие белковые «кванты» адресно направляются к плазмалемме с целью их выведения из клетки или же в лизосомы, пероксисомы и другие внутриклеточные структуры. Для адресной доставки разные категории белков должны быть помечены. Это происходит тоже в пластинчатом комплексе Гольджи. Ли-зосомальные белки, например, узнаются ферментами этого комплекса, фосфорилирующими маннозу с образованием маннозофосфата в олигосахаридной части названных белков. Помеченные таким образом молекулы при помощи специальных рецепторов фиксируются на мембране комплекса Гольджи с последующим формированием пузырьков, содержащих исключительно ферменты лизосом. Далее эти пузырьки сливаются с другими, специфически характеризующимися низкими значениями *pH*. Следующий этап состоит в диссоциации рецепторов маннозофосфата, возвращающихся в комплекс Гольджи, от гликопротеиновой части лизосомных ферментов, которые оказываются в лизосоме.

Внутрицитоплазматический транспорт с участием эндоплазматического ретикула распространяется на полипептиды, образуемые на полисомах гранулярной сети. Его называют **котрансляционным**, поскольку он начинается при продолжающемся синтезе полипептида на рибосоме. В перемещении от места образования к месту назначения белков митохондрий, синтезируемых на свободных (не связанных с мембранами эндоплазматической сети) полисомах, задействован другой механизм (см. п. 2.4.4.4-д).

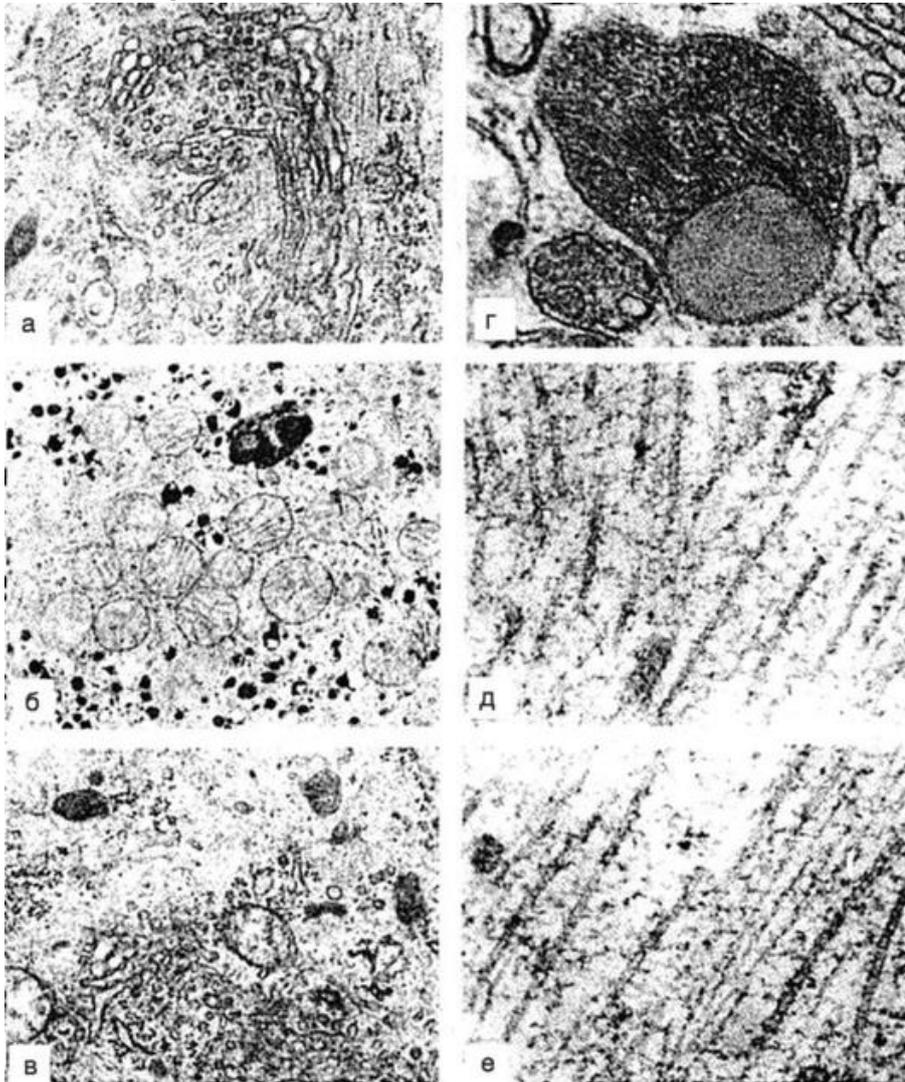


Рис. 2.19. Общеклеточные органеллы: а - диктиосома; б - митохондрии; в - лизосомы; г - вторичные лизосомы; д - микротрубочки; е - микрофиламенты

2.4.4.4-в. Лизосомы

Лизосомы (рис. 2.19, в) - пузырьки (диаметр 0,2-0,4 мкм), которые содержат ферменты с общим названием **кислые гидролазы** -

протеиназы, фосфатазы, эстеразы, ДНКазы, РНКазы. Своим названием эти ферменты обязаны тому, что в их функцию входит катализ гидролитического (в водной среде) расщепления нуклеиновых кислот, белков, жиров, полисахаридов и мукополисахаридов, других химических соединений при низких значениях pH (4,5). В цитобиологических понятиях эту функцию следует рассматривать как внутриклеточное переваривание веществ и структур. Лизосомы есть во всех эукариотических клетках. В печеночной клетке млекопитающих, например, их несколько сотен.

Оболочка лизосом образована одной мембраной, иногда покрытой снаружи волокнистым белковым слоем (англ. *coated vesicles* - окаймленные пузырьки). **Окаймленные пузырьки** иногда идентифицируются с первичными лизосомами. Наличие мембраны - один из факторов защиты внутриклеточных образований от разрушающего действия лизосомальных ферментов. Еще один фактор защиты клетки от атаки собственными гидролитическими ферментами обусловлен тем, что лизосомальные ферменты активны исключительно в кислой среде, которая внутри органеллы создается специальным насосом, удаляющим протоны (H^+). Нарушение же

Источник KingMed.info

целостности мембран единичных лизосом не может нанести ущерба клетке. С одной стороны, соответствующие ферменты в гиалоплазме с pH около 7,3 практически неактивны, а с другой - буферная емкость основного вещества цитоплазмы несравнимо больше, чем содержимого отдельной лизосомы.

Лизосомы в клетке - это сборная (гетерогенная) группа частиц, что обусловлено их функцией. **Первичными лизосомами** называют неактивные органеллы, **вторичными** - органеллы, в которых идет процесс переваривания. Вторичные лизосомы образуются из первичных. Они подразделяются на **гетеролизосомы (фагосомы или фаголизосомы)** и **аутолизосомы (цитолизосомы или цитолизосомы)**. В первых (рис. 2.19, г) переваривается материал, поступающий в клетку извне путем фагоцитоза (твердые частицы) и пиноцитоза (порции жидкости), во вторых разрушаются собственные структуры клетки, завершающие жизненный путь. К ним относятся митохондрии, длительность жизни которых, например, в клетках печени составляет порядка 10 сут, фрагменты мембран. Вторичные лизосомы, в которых процесс переваривания завершен, составляют подгруппу **остаточных телец (телолизосомы)**. В них отсутствуют гидролазы и содержится материал, который не мог быть разрушен. Известны наследственные заболевания, в основе которых лежит отсутствие в лизосомах одного или нескольких ферментов. Такие состояния ведут к серьезными негативным для здоровья последствиями, так как клетки оказываются перегруженными определенными химическими соединениями. В случае болезни Тея-Сакса это сфинголипиды, соединения из группы полярных липидов, используемых при построении мембран. Для болезни Помпе, приводящей к смерти в младенческом возрасте, характерно в связи с недостаточностью соответствующего лизосомального фермента накопление в клетках гликогена.

2.4.4.4-г. Микротельца

Микротельца - сборная группа структур (пузырьков), ограниченных одной мембраной (диаметр 0,1-1,5 мкм). Согласно электронно-микроскопическим исследованиям, для них характерны мелкозернистое внутреннее содержимое (матрикс) и, нередко, кристаллоидные или аморфные включения белковой природы. К этой группе относят **перок-сисомы** (см. п. 2.4.8).

2.4.4.4-д. Митохондрии

Митохондрии (рис. 2.19, б) - структуры округлой или палочковидной, иногда ветвящейся формы толщиной 0,5 мкм и длиной обычно 5-10 мкм. В животных клетках количество митохондрий варьирует от 150 до 1500, хотя в яйцеклетках амфибий их число достигает нескольких сотен тысяч. В сперматозоидах предположительно есть одна гигантская митохондрия, закрученная вокруг основания жгутика. Единичная ветвящаяся митохондрия обнаружена у одноклеточного кровяного паразита человека трипаносомы.

Оболочка митохондрии представлена двумя мембранами, различающимися по химическому составу и функциям. **Внешняя мембрана** легко проницаема для широкого круга веществ, тогда как внутренняя для большинства веществ практически непроницаема. Для тех же соединений, для которых она проходима, имеются чрезмембранные транспортные каналы. **Внутренняя мембрана** органеллы образует выпячивания или **кристы**, количество которых коррелируют с интенсивностью процесса энергообразования. Объясняется это тем, что во внутренней мембране размещается **цепь переносчиков электронов** от химических субстратов (веществ) на кислород. Высвобождаемая отдельными порциями в ходе такого **ступенчатого окисления** (в отличие от горения) энергия утилизируется с помощью встроенного в ту же внутреннюю мембрану механизма синтеза АТФ из АДФ и неорганического

Источник KingMed.info

фосфата (**фосфорилирование**). Благодаря наличию двух отмеченных составляющих, описанный процесс в целом назван окислительным **фосфори-лированием**.

Пространство, ограниченное внутренней мембраной, составляет внутреннюю среду или **матрикс**. По данным электронной микроскопии, он имеет мелкозернистый вид с наличием более крупных зерен диаметром

20-40 нм. Последние содержат ионы кальция и магния, а также полисахариды, например гликоген.

Матрикс органеллы представляет собой концентрированный раствор ферментов, катализирующих все, кроме одной, реакции **цикла лимонной кислоты**. В нем размещен **собственный аппарат биосинтеза белка** митохондрии. Он представлен 2-6 копиями кольцевой молекулы ДНК (**хромосома М**), рибосомами, набором тРНК, ферментами репликации ДНК, транскрипции и трансляции генетической информации. По таким свойствам, как организация наследственного материала (отсутствие гистонов, ДНК в форме кольца, отсутствие интронов), размеры рибосом, использование формилметионин-тРНК на старте трансляции, этот аппарат близок к таковому прокариот и отличается от аппарата биосинтеза белка цитоплазмы эукариотической клетки. Все это рассматривают в качестве аргумента в пользу симбиотической гипотезы происхождения митохондрий (см. п. 1.10). В митохондриях находится около 10% ДНК животных клеток.

Гены собственной ДНК кодируют нуклеотидные последовательности митохондриальных рибосомных и транспортных РНК, а также последовательность аминокислот в некоторых белках органеллы, главным образом, ее внутренней мембраны. Аминокислотные последовательности большинства белков митохондрии закодированы в ДНК ядерных хромосом, а сами белки образуются вне органеллы, в цитоплазме. Перемещение митохондриальных белков, образуемых под контролем ядерных генов, обеспечивается благодаря участию белков **шаперонов** (англ., *chaperon* - пожилая дама, сопровождающая на балах молодую девушку; см. также п. 2.4.1). Белки митохондрий, о которых идет речь, синтезируются на свободных (не прикрепляющихся к мембранам) полисомах. По завершении синтеза они отделяются от рибосом и комплексируются с шаперонами. В составе такого комплекса белки достигают органеллы и проникают в нее. Оказавшись в матриксе митохондрии, комплекс распадается. Здесь же в матриксе при участии **других шаперонов** белки приобретают третичную (трехмерную, объемную) структуру. Прохождению через мембраны помогает присутствие в митохондриальных белках ци-топлазматического происхождения **лидерных аминокислотных последовательностей** (сервисные участки). Такие последовательности имеют фрагмент, который обеспечивает присоединение белков к рецептору внешней мембраны органеллы с дальнейшим прохождением через пору во внешней и внутренней мембранах. Оказавшись в матриксе, белки теряют лидерную последовательность. В случае, когда митохондриальный белок цитоплазматического происхождения предназначен для межмембранного пространства органеллы, он имеет две лидерные последовательности. Первая, аналогичная упомянутой выше, транспортирует его в матрикс, тогда как вторая способствует выходу белка через внутреннюю мембрану в межмембранное пространство.

Дополнительной характеристики заслуживает семейство внутриклеточных белков-шаперонов, которые участвуют в обеспечении **фолдинга** (англ. *fold* - складывать, сгибать, загибать) полипептидов (первичная, линейная конфигурация) в трехмерные структуры (третичная, объемная конфигурация). При этом шапероны лишь организуют процесс фолдинга, тогда как

Источник KingMed.info

функционально активная трехмерная форма белка определяется аминокислотной последовательностью полипептида.

Главная функция митохондрий состоит в извлечении из химических соединений энергии путем их окисления и фиксации энергии в биологически используемой форме путем синтеза АТФ. Еще одна функция митохондрий, редко выделяемая в качестве самостоятельной, состоит в том, что в них в процессах энергообразования утилизируется 95-99% O_2 . Последнее служит снижению внутриклеточного парциального давления кислорода до значений, минимизирующих его разрушительное действие на биологические макромолекулы и структуры. Митохондрии - участницы процесса генетически контролируемой клеточной гибели апоптоза (см. п. 3.1.2 и рис. 3.3). Среди дополнительных функций митохондрий называют образование стероидных гормонов и некоторых аминокислот (глутаминовая). В клетках бурой жировой ткани новорожденных детей митохондрии решают задачу теплопродукции (см. п. 2.4.6.1).

2.4.4.4-е. Рибосома

К органеллам общего значения относятся некоторые постоянные структуры цитоплазмы, лишенные мембран. Среди них **рибосомы**, в связи с которыми происходит биосинтез белков. Названная органелла представляет собой сборную рибонуклеопротеиновую частицу диаметром 20-30 нм. Она состоит из малой и большой субъединиц (рис. 2.20). Объединение субъединиц в рибосому происходит в цитоплазме в присутствии информационной (матричной) РНК - и(м)РНК. Одна молекула и(м)РНК обычно объединяет несколько рибосом наподобие нитки бус - **полисома (полирибосома)**. Полисомы свободно располагаются в основном веществе цитоплазмы или прикреплены к мембранам шероховатой цитоплазматической сети. В обоих случаях они служат ме-

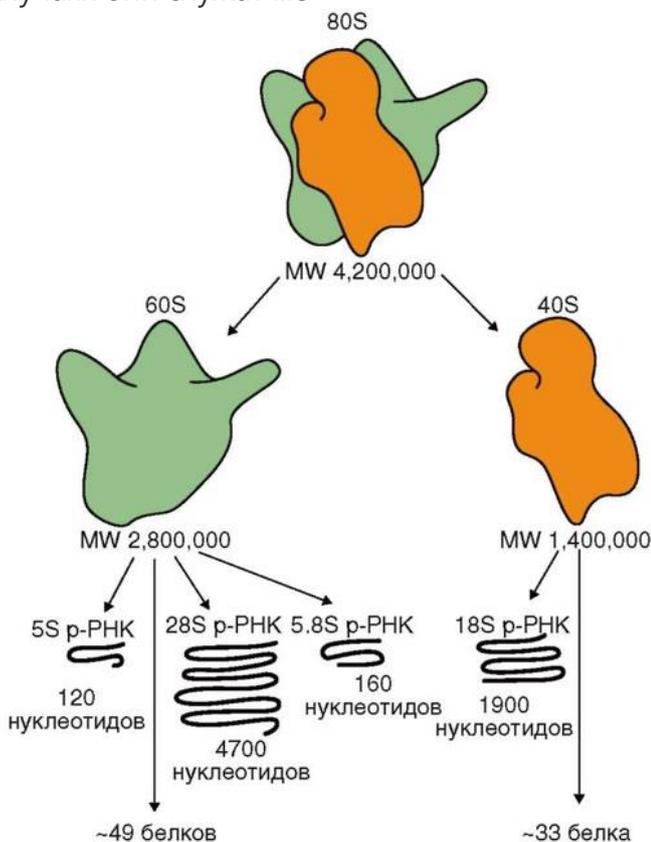


Рис. 2.20. Структура эукариотической рибосомы (схема). Указаны молекулярный вес (MW) и седиментационные характеристики (S) рибосомы и ее субъединиц, молекулы рибосомных РНК и количество белков большой и малой субъединиц

Источник KingMed.info

стом синтеза белков. На «свободных» полисомах образуются, главным образом, **белки для собственных нужд** («домашнего» использования, англ. *housekeeping proteins*) клетки, тогда как на полисомах гранулярной сети синтезируются белки, покидающие клетку и используемые **на нужды организма** (белки «роскоши», англ. *luxury proteins*; например, пищеварительные ферменты, белки грудного молока). Рибосомы (полисомы) отсутствуют в эритроцитах млекопитающих, в том числе человека, полностью утративших способность образовывать белки. Детали строения рибосомы и ее функциональный цикл охарактеризованы ниже (см. п. 2.4.5-ж).

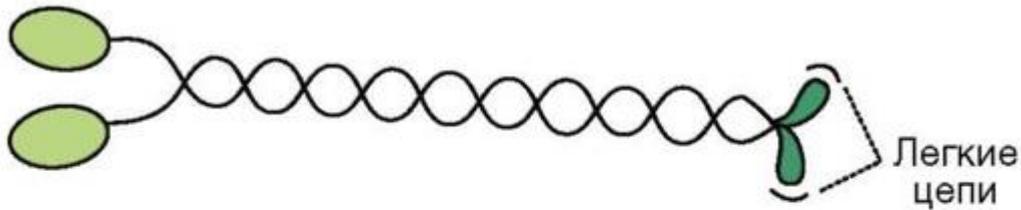
2.4.4.4-ж. Микротрубочки

К органеллам немембранного строения относят **микротрубочки** (см. рис. 2.19, д) - трубчатой формы образования различной длины с внешним диаметром 24 нм, толщиной стенки около 5 нм и шириной «просвета» 15 нм. Они встречаются в свободном состоянии в цитоплазме клеток или как структурные элементы жгутиков (сперматозоиды), ресничек (мерцательный эпителий трахеи), митотического веретена и центриолей (делящиеся клетки).

Микротрубочки строятся путем сборки (полимеризации) белка **ту-булина**. Микротрубочки полярны: в них выделяют концы (+) и (-). Их рост происходит от специальной структуры неделящихся клеток - **центра организации микротрубочек**, с которым органелла связана концом (-) и который представлен двумя элементами, идентичными по строению центриолям клеточного центра. Удлинение микротрубочек происходит путем присоединения новых субъединиц на конце (+). В начальной фазе направление роста не определено, но из образующихся микротрубочек сохраняются те, которые вступают в контакт своим (+) концом с подходящей мишенью. В растительных клетках, в которых микротрубочки имеются, структур типа центриолей не найдено. Микротрубочки принимают участие в поддержании формы клеток, в организации их двигательной активности (жгутики, реснички) и внутриклеточных перевозок (хромосомы в анафазе митоза). Функции внутриклеточных молекулярных двигателей выполняют белки **кинезин** и **динеин**, имеющие активность фермента АТФ-азы. При жгутиковом или реснитчатом движении молекулы динеина, прикрепляясь к микротрубочкам и используя энергию АТФ, перемещаются по их поверхности по направлению к базальному тельцу, то есть к концу (-). Смещение микротрубочек друг относительно друга вызывает волнообразные движения жгутика или ресничек, побуждающие клетку к перемещению в пространстве. В случае неподвижных клеток, например, реснитчатого эпителия трахеи, описанный механизм используется для выведения из дыхательных путей слизи с оседающими в ней частицами (дренажная функция).

Участие микротрубочек в организации внутриклеточных перевозок иллюстрирует перемещение в цитоплазме пузырьков (везикул). Молекулы кинезина и динеина содержат две глобулярных «головки» и «хвосты» в виде белковых цепей (рис. 2.21, а). При помощи головок белки контактируют с микротрубочками, перемещаясь по их поверхности: кинезин от конца (-) к концу (+), а динеин в противоположном направлении. При этом они тянут за собой пузырьки, прикрепленные к «хвостам» (рис. 2.21, б). Предположительно, макромолекулярная организация «хвостов» переменна, чем обеспечивается узнавание различных транспортируемых структур.

а



б



Рис. 2.21. Структура кинезина (а) и транспорт везикулы по микротрубочке (б)

С микротрубочками как обязательным компонентом митотического аппарата связывают расхождение центриолей к полюсам делящейся клетки и перемещение хромосом в анафазе митоза. Для животных клеток, клеток части растений, грибов и водорослей характерен **клеточный центр (диплосома)**, образованный двумя центриолями. Под электронным микроскопом **центриоль** имеет вид «полого» цилиндра диаметром 150 нм и длиной 300-500 нм. Стенка цилиндра образована 27 микротрубочками, сгруппированными в 9 триплетов. В функцию центриолей, сходных по структуре с элементами центра организации микротрубочек (см. здесь же, выше), входит образование нитей митотического веретена (веретена деления, ахроматинового веретена классической цитологии), представляющих собой микротрубочки. Центриоли поляризуют процесс деления клетки, обеспечивая закономерное расхождение к ее полюсам сестринских хроматид (дочерних хромосом) в анафазе митоза.

2.4.4.4-з. Микрофиламенты

Микрофиламенты (см. рис. 2.19, е) - тонкие нитеобразные структуры, обнаруживаемые по всей цитоплазме и иногда формирующие пучки. Известно несколько типов микрофиламентов.

Актиновые микрофиламенты диаметром 6 нм построены из белка актина. Их наличие связывают с амебоидным клеточным движением. Им также приписывают каркасную роль и участие в организации внутриклеточных перемещений органелл и участков основного вещества цитоплазмы. Двигательную функцию актиновые микрофиламенты осуществляют во взаимодействии с белком **миозином**. Молекулы миозина своей глобулярной частью контактируют с актиновыми микро-филаментами, а вытянутой хвостовой - формируют вместе с другими аналогичными молекулами так называемые **толстые филаменты**. Последние обеспечивают тянущее действие в отношении смежных ак-тиновых микрофиламентов. Так как тянущие усилия действуют относительно микрофиламентов в противоположном направлении,

Источник KingMed.info

они создают скользящий момент, благодаря которому расстояние между концами микрофиламентов сокращается. Если указанные концы прикреплены к клеточной мембране, то ее форма в зоне прикрепления меняется, что лежит в основе образования псевдоподий и, следовательно, амебоидного движения. Выполнение актиновыми микрофиламентами каркасной (структурной) функции иллюстрирует строение микроворсинок эпителиальных клеток выстилки просвета кишечника. Сердцевина микроворсинок представлена пучками актиновых микроволоконце. Форма клеток поддерживается благодаря размещению под плазмалеммой плотных пучков актиновых микрофиламентов.

В клетках присутствуют **промежуточные микрофиламенты**, Их название определено тем, что по диаметру (10 нм) они занимают среднее положение между микротрубочками и актиновыми микрофиламентами. Хотя разные типы промежуточных микрофиламентов образованы различными белками, эти белки отличаются большей степенью гомологии (достаточно близки друг к другу по аминокислотному составу). Промежуточные микрофиламенты - один из элементов цитоскелета. Наличием промежуточных филаментов обусловлена высокая прочность клеток эпидермиса кожи, а особых кератиновых микрофиламентов - волос. Вместе с тем недостаток рассматриваемых структур при некоторых мутациях не мешает клеткам с мутантным фенотипом в условиях культуры (*in vitro*) делиться и расти. Напомним, что промежуточные микрофиламенты принимают участие в образовании ядерной ламины (см. п. 2.4.3.1), которая подстилает внутреннюю мембрану ядерной оболочки, выполняя каркасную роль. Промежуточные микрофиламенты необходимы для нормального функционирования нервных клеток. Развитие таких нейродегенеративных заболеваний, как болезни Альцгеймера и Паркинсона, боковой амиотрофический склероз, связано с изменениями микрофиламентозных структур.

2.4.5. ПОТОК ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИНФОРМАЦИИ: КЛЕТочный УРОВЕНЬ

Жизнедеятельность клетки как единицы биологической активности обеспечивается совокупностью взаимосвязанных, приуроченных к определенным внутриклеточным структурам, упорядоченных в пространстве и во времени метаболических (обменных), созидательных (конструктивных, продуктивных, синтетических) и регуляторных процессов. Эти процессы образуют три потока: информации, энергии и веществ.

Благодаря **потоку информации** клетка, используя эволюционный опыт предков, приобретает структуру, отвечающую критериям элементарной структурной, функциональной и генетической единицы жизни (см. п. 2.1), поддерживает ее во времени и передает в ряду поколений. Этот же поток составляет основу выполнения специализированными клетками многоклеточного организма их функций.

Непосредственными участниками потока информации являются клеточное ядро (**ДНК хромосом**, репликация и транскрипция), макромолекулы, переносящие генетическую информацию из ядра в цитоплазму (**информационная**, или **матричная**, и другие виды **РНК**, посттранскрипционные изменения пре-РНК транскриптов), цитоплазматический аппарат образования простых белков или полипептидов (**рибосомный цикл синтеза белка**). С **полипептидами** происходят посттрансляционные изменения (фолдинг - приобретение вторичной и третичной структуры или конфигурации, объединение в комплексы - четвертичная структура, химическая модификация). **Функционально зрелые белки и их комплексы** используются в качестве ферментов, строительных блоков, антител и т.д. (рис. 2.22).

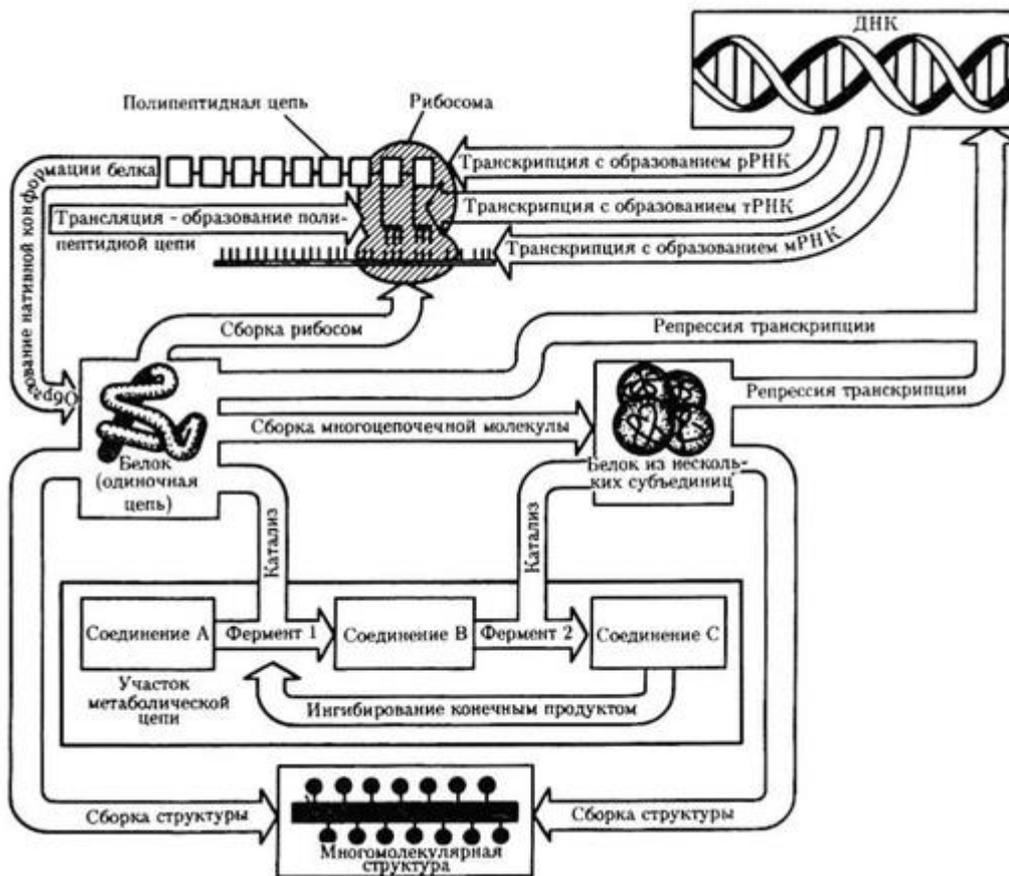


Рис. 2.22. Поток биологической информации в клетке

2.4.5.1. Макромолекулярная и надмолекулярная организация ДНК

Молекулой, с которой связано сохранение в клетках биологической (наследственной, генетической) информации, является **ДНК**. Ею обеспечиваются **передача качественно и количественно полноценной информации в ряду клеточных поколений и использование этой информации для организации клеточных функций**. Первая из названных задач решается путем воспроизведения идентичных двойных спиралей ДНК, вторая - путем биосинтеза белков. На заре биогенеза роль носителя генетической информации принадлежала, видимо, РНК (см. п. 1.4.6). Выбор эволюции в пользу ДНК обусловлен ее большей **химической инертностью** и, следовательно, **стабильностью**. Стабильности вещества наследственности в мире жизни принадлежит особое место. **Минимизация искажения информации** за счет химической стабильности молекул-носителей была в эволюции усилена путем возникновения механизмов «макромолекулярной редакции» **ДНК-текстов**, коррекции в них ошибок и молекулярной репарации повреждений молекул ДНК.

Генетическая (биологическая) информация записана по длине молекул ДНК **в виде последовательности нуклеотидов**, тогда как способность передавать эту информацию от клетки к клетке, а также использовать для обеспечения клеточной жизнедеятельности определяется надмолекулярной **организацией ДНК в виде двойной спирали**, в которой осуществлен **принцип комплементарности**. Осуществление этого принципа, делая возможным **матричный синтез**, составляет молекулярно-биологический базис обеих главных функций ДНК - использование информации в целях организации клеточных функций (через механизмы транскрипции и трансляции) и передача информации в ряду клеточных поколений

Источник KingMed.info

(через механизмы репликации ДНК и митоза). На макромолекулярном уровне в связи с первой функцией речь идет об образовании молекул информационных (матричных) РНК и рибосомном цикле биосинтеза белка, со второй - о копировании и распределении между дочерними клетками биспиралей ДНК.

Биоинформационное обеспечение жизнедеятельности эукариотических организмов требует сложного **генетического аппарата**. Основу названного аппарата составляет клеточный геном. Формально **геном** (термин предложен немецким генетиком Г. Винклером в 1920 г.) определяется как совокупность генов одинарного (гаплоидного) набора хромосом. В связи с открытием некодирующих сайтов (см. п. 4.3.1) ДНК в настоящее время предлагается включать в геном всю совокупность ну-клеотидных последовательностей ДНК гаплоидного набора хромосом организмов определенного вида. При таком определении понятие генома распространяется, во-первых, на гены в понимании классической генетики, то есть на сайты ДНК, кодирующие молекулы РНК, участвующие в белковом синтезе (рибосомные, транспортные), а также белки. Во-вторых, в геном включаются все остальные нуклеотидные последовательности (сайты) ДНК с регуляторными, сервисными, конценсусными и рядом других, нередко еще мало понятых наукой функций.

Макромолекула ДНК - полимер, построенный из мономеров-нуклеотидов (их 4). **Нуклеотиды** различаются по **азотистым основаниям**, которые представлены либо **пурином (аденин или гуанин)**, либо **пиримидином (цитозин или тимин)**. Два других компонента молекулы ДНК - пятиуглеродный сахар **дезоксирибоза** и остаток

фосфорной кислоты. Нуклеотиды в ДНК соединены связями между дезоксирибозой и фосфатом (рис. 2.23, А). Последовательность ну-клеотидов в рассматриваемой цепочке (**первичная структура**) может быть любой. ДНК присутствует в клетках в виде комплекса из двух комплементарных (взаимодополняющих) антипараллельных молекул - **вторичная структура** (рис. 2.23, Б). Так как существование такой конструкции («лестничная» конфигурация) невозможно по стереохимическим соображениям, комплекс «закручен» в трехмерную двойную спираль (биспираль, англ. *helix*, г(х)еликс) - **третичная структура** (рис. 2.24). Образующиеся при этом малая и большая бороздки - необходимое условие присоединения к ДНК регуляторных белков (транскрипционных факторов). Обычно это правозакрученная (витки следуют по часовой стрелке) спираль или В-форма. Обнаружена также левозакрученная Z-форма.

Полимеры в биспирали удерживаются связями между пурином и пиримидином: «аденин-тимин» и «гуанин-цитозин». Отмеченные особенности организации обеспечивают выполнение ДНК функций **информационной макромолекулы**. Независимая комбинация нуклеотидов по длине молекулы служит записи биологической информации (см. п. 2.4.5.2), а двойная спираль из комплементарных полимеров решает задачу копирования этой информации (см. п. 2.4.5.3).

Диаметр спирали ДНК составляет 2 нм, расстояние между смежными парами оснований - 0,34 нм, а один виток спирали - 10 пар азотистых оснований или нуклеотидов. Число молекул ДНК равно числу хромосом в ядре клетки. Длина таких молекул различна, поскольку хромосомы имеют разные размеры. У человека наибольшие размеры имеет хромосома 1 (263 млн п.н., минимальное оценочное число генов 2237, из которых ассоциированных с болезнями 157), наименьшие - хромосома 21 (50 млн п.н., минимальное оценочное число генов 204, из которых ассоциированных с болезнями 23). Классическая цитогенетика наименьшие размеры приписывала хромосоме 22. Длина кольцевой митохондриальной ДНК (хромосома М) человека 16 569 п.н.

Источник KingMed.info

Наиболее крупный из обнаруженных в природе или синтезированных в лаборатории полимеров - это биспираль ДНК хромосомы 1 длиной 8 см. Размеры геномов оцениваются в пикограммах, дальтонах или в парах нуклеотидов: $1 \text{ пг} = 10^{-9} \text{ мг} = 0,6 \times 10^{12} \text{ дальтон} = 0,9 \times 10^9 \text{ п.н.}$ ДНК генома людей состоит из 3,2 млрд п.н., что по весу составляет 3,5 пг. Следовательно, диплоидная соматическая клетка человека содержит примерно 7 пг ДНК.

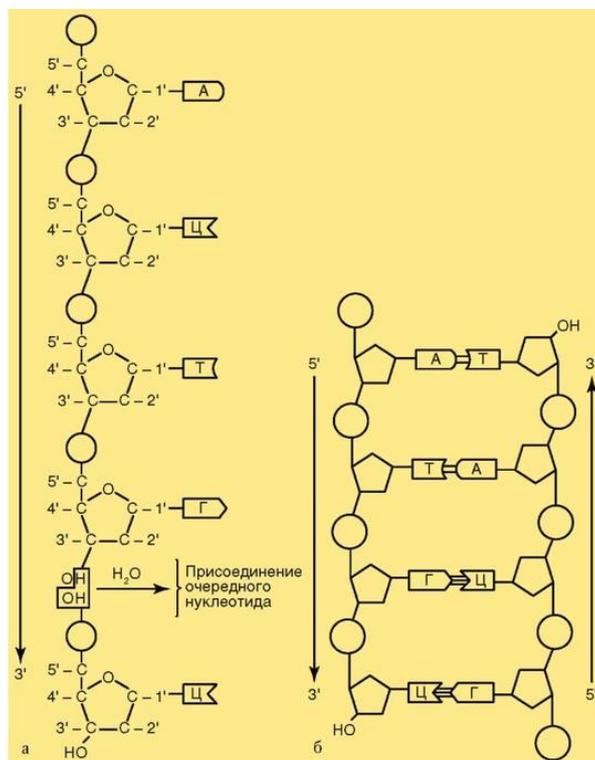


Рис. 2.23. Первичная (а) и вторичная (б) структура ДНК. Стрелками обозначена антипараллельность цепей

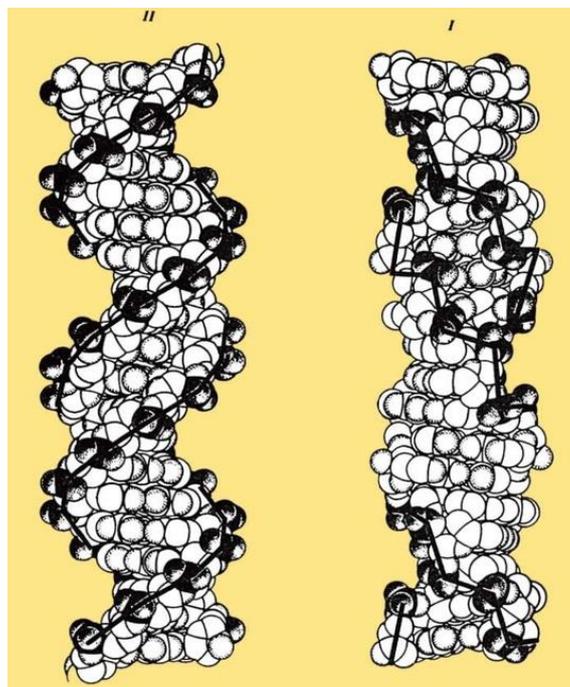


Рис. 2.24. Двойная спираль ДНК (трехмерная третичная структура). I - левозакрученная Z-форма; II - правозакрученная B-форма

Источник KingMed.info

Об информационной емкости генома человека говорит следующий пример. Если ДНК-тексты одной клетки воспроизвести шрифтом телефонных справочников (наиболее мелкий из используемых в полиграфии), то для их издания понадобилось бы 1000 книг по 1000 страниц в каждой.

2.4.5.2. Способы записи биологической информации. Генетический (биологический) код

Переход от преджизни к жизни на Земле связывают с оформлением **потока информации** (см. п. 1.4.6, рис. 2.22). Любая информация, включая биологическую, для ее сохранения или манипуляций с нею требует **системы записи** или **кодирования**. В мире жизни это решается благодаря **информационным макромолекулам** (ДНК, РНК, белки), представляющим собой **биомолекулярные тексты** (взаимосоответствующие по содержанию ДНКовые, РНКовые и белковые), составленные с использованием **биологического (генетического) кода**. Использование в биоинформатике названных выше полимеров дает право называть земную жизнь **белково-нуклеиновой**.

Вопрос о химической природе носителя биологической информации в клетке долгое время был предметом дискуссий. Решающим аргументом в пользу нуклеиновых кислот (ДНК) послужили результаты опытов Ф. Гриффита (1928), воспроизведенных на новом методическом уровне О. Эйвери (1944). Эти результаты говорили о том, что приобретение пневмококками непатогенного штамма патогенных свойств обусловлено проникновением в эти пневмококки ДНК пневмококков патогенного штамма. Другие доказательства биоинформационно-генетической функции ДНК:

- постоянство содержания ДНК в соматических клетках организма;
- соответствие содержания ДНК плоидности клеток (в соматических клетках ее вдвое больше, чем в половых);
- явление генетической рекомбинации у прокариот при их конъюгации, в ходе которой осуществляется проникновение фрагментов ДНК из одной бактериальной клетки в другую с соответствующим изменением фенотипических свойств;
- феномен трансдукции - изменение наследственных свойств бактериальных клеток путем переноса ДНК от одного штамма к другому при помощи бактериофага;
- инфицирующая способность вирусов определяется их нуклеиновой кислотой.

Метаболическая стабильность (**сохранность информации**), большие размеры молекул (**информационная емкость**), надмолекулярная организация ДНК в виде биспирали, образованной комплементарными макромолекулами (**матричный механизм копирования** или «снятия» информации) отвечают требованиям к материалу, выполняющему функции хранения и тиражирования генетической информации. По-иному обстоят дела с использованием информации в процессах развития и жизнедеятельности. Из природных полинуклеотидов РНК (но не ДНК) может проявлять ферментативную активность (рибозимы), но в очень ограниченном объеме. Белки же характеризуются такой активностью в полной мере. Оформившийся в эволюции механизм «**опосредованного автокатализа пептидов**» (см. п. 1.4.4) или, другими словами, процесс биосинтеза белка в клетке, объединил в себе потенциал обоих типов биополимеров и предопределил структуру **информационной системы (потока информации) живых форм**. Главные участники этой системы - **ДНК, РНК и белки**.

В мире жизни присутствует два вида текстов: связанные с нуклеиновыми кислотами, записанные при помощи нуклеотидов, и связанные с белками, записанные при помощи аминокислот.

Источник KingMed.info

Расчеты говорят о том, что для кодирования одной аминокислоты в белке достаточно **тройки нуклеотидов** в ДНК и/или РНК. Число возможных сочетаний из 4 нуклеотидов по 4, располагающихся по-разному в молекуле ДНК, измеряется астрономическими цифрами. Так, во фрагменте ДНК всего из 100 п.н. теоретически может быть закодированы аминокислотные последовательности 4100 белков среднего размера. Число сочетаний из 4 по 2 (16) при количестве аминокислот в «стандартном» наборе для синтеза белков 20 недостаточно, тогда как число сочетаний из 4 по 3 (64) удовлетворяет критерию достаточности.

В пробирке синтезировали короткие фрагменты РНК, содержащие один из четырех нуклеотидов. Эти фрагменты затем использовали в искусственных системах синтеза белка. Применяя фрагмент поли-У (по-лиуридиловый полимер), получали пептид, состоящий исключительно из аминокислоты фенилаланина. Был сделан вывод, что три уридило-вых нуклеотида в РНК (три адениловых нуклеотида в ДНК) кодируют в белках фенилаланин. Благодаря описанному приему, в 60-х гг. XX столетия генетический код был расшифрован полностью (табл. 2.2). **Тройки нуклеотидов**, соответствующие отдельным аминокислотам, получили название **триплетов** или **кодонов**.

Таблица 2.2. Генетический (биологический) код: аминокислоты и кодирующие их триплеты ДНК

Аланин (Ала)	Аргинин (Арг)	Аспарагин (Асп)	Аспарагиновая кислота (Асп)	Валин (Вал)
ЦГА, ЦГГ, ЦГТ, ЦГЦ	ТЦТ, ТЦЦ, ГЦА, ГЦГ, ГЦА, ГЦЦ	ГТА, ТТГ	ЦТА, ЦТГ	ЦАА, ЦАГ, ЦАТ, ЦАЦ
Гистидин (Гис)	Глицин (Гли)	Глутамин (Гли)	Глутаминовая кислота (Глу)	Изолейцин (Иле)
ГТА, ГТГ	ЦЦА, ЦЦГ, ЦЦТ, ЦЦЦ	ГТТ, ГТЦ	ЦТТ, ЦТЦ	ТАА, ТАГ, ТАТ

Окончание табл. 2.2

Лейцин (Лей)	Лизин (Лиз)	Метионин (Мет)	Пролин (Про)	Серин (Сер)
ААТ, ААЦ, ГАА, ГАГ, ГАТ, ГАЦ	ТТТ, ТТЦ	ТАЦ	ГГА, ГГГ, ГГТ, ГГЦ	ТЦА, ТЦГ, АГА, АГГ, АГТ, АГЦ
Тирозин (Тир)	Треонин (Тре)	Фенилаланин (Фен)	Триптофан (Три)	Цистеин (Цис)
АТА, АТГ	ТГА, ТГГ, ТГТ, ТГЦ	ААА, ААГ	АЦЦ	АЦА, АЦГ
Нет аминокислоты (нонсенс-или стоп-кодон)				
АТТ, АЦТ, АТЦ				

Приведенные в табл. 2.2 триплеты располагаются в **кодогенной молекуле** двойной спирали ДНК. и(м)РНК, обеспечивающая синтез белка с определенной аминокислотной последовательностью, образуется на парной ей **матричной молекуле** биспиральи. В триплетях и(м)РНК, в сравнении с триплетями ДНК, тимидиловый нуклеотид (Т) заменен на уридиловый (У). Генетический код в виде триплетов и(м)РНК приведен в табл. 2.3.

Таблица 2.3. Генетический (биологический) код: аминокислоты и кодирующие их триплеты и(м)РНК

Аланин	Аргинин	Аспарагин	Аспарагиновая кислота	Валин
ГЦУ, ГЦА, ГЦЦ, ГЦГ	ЦГУ, ЦГА, ЦГЦ, ЦГГ, АГА, АГГ	ГАУ, ГАЦ	ААУ, ААЦ	ГУУ, ГУЦ, ГУА, ГУГ

Гистидин	Глицин	Глутамин	Глутаминовая кислота	Изолейцин
ЦАУ, ЦАЦ	ГГУ, ГГА, ГГЦ, ГГГ	ГАА, ГАГ	ЦАА, ЦАГ	АУУ, АУА, АУЦ
Лейцин	Лизин	Метионин	Пролин	Серин
УУА, УУГ, ЦУУ, ЦУГ, ЦУА, ЦУЦ	ААА, ААГ	АУГ	ЦЦГ, ЦЦЦ, ЦЦА, ЦЦУ	АГУ, АГЦ, УЦА, УЦГ, УЦУ, УЦЦ
Тирозин	Треонин	Фенилаланин	Триптофан	Цистеин
УАУ, УАЦ	АЦУ, АЦА, АЦГ, АЦЦ	УУУ, УУЦ	УГГ	УГУ, УГЦ
Нет аминокислоты, (нонсенс- или стоп-кодон)				
УАА, УАГ, УГА				

Нуклеотидные последовательности генов одной хромосомы обычно размещены в одной и той же молекуле биспирали ДНК, но есть исключения. Так, из пяти гистоновых генов плодовой мухи для двух генов информация записана в одной полинуклеотидной цепи, а для трех других генов - в парной ей цепи биспирали ДНК. Таким образом, роль кодогенной (а также матричной) молекулы может выполнять любая из цепей двойной спирали.

Единицей информации в молекулах ДНК служит тройка нуклеотидов или триплет, то есть генетический код является **триплетным**. При этом 4 нуклеотида, строящие ДНК, образуют 64 триплета, из которых 61 кодирует 20 аминокислот (**смысловые триплеты**), а 3 не имеют кодируемых аминокислот и служат для обозначения пункта терминации (завершения) транскрипции (**бессмысленные** или **нонсенс-кодона, стоп-кодона**). Генетический код является **неперекрывающимся** (отдельной аминокислоте соответствует самостоятельный триплет), **непрерывным** (триплеты для последовательности аминокислот в конкретном белке следуют друг за другом без «пробелов», но см. интроны, п. 2.4.5.5), **универсальным** (одни и те же триплеты используются для кодирования одних и тех же аминокислот у представителей всех групп живых существ - от вирусов и прокариот до млекопитающих, в том числе человека; известны исключения - см. здесь же, ниже), **вырожденным** (для кодирования одной аминокислоты, кроме метионина и триптофана, используется от двух до шести триплетов), **специфичным** (конкретному триплету соответствует одна аминокислота). Если для аминокислоты существует от двух до четырех триплетов (аланин, валин, глицин, пролин, треонин), то различия между триплетами касаются исключительно последнего, третьего нуклеотида (нонсенс-кодона не подпадают под это правило). В таком случае мутационное изменение третьего нуклеотида в триплете примерно в 64% дает триплет-синоним, что служит повышению уровня сохранности информации в ДНК. Сходные по строению и/или химическим свойствам аминокислоты имеют триплеты с одним и тем же центральным (вторым) нуклеотидом. К примеру, триплеты гидрофобных аминокислот (фенилаланин, лейцин, изолейцин, метионин, валин) имеют в ДНК второй нуклеотид А, а в и(м)РНК - У. Эта особенность генетического кода создает «биоинформационный буфер», который сводит к минимуму влияние многих генных мутаций на функциональные характеристики соответствующих белков (гидрофобная аминокислота меняется на гидрофобную).

Есть примеры, не отвечающие принципу универсальности генетического кода. Так, в клетках распространенного возбудителя микозов человека *Candida albicans* кодон ЦУГ соответствует аминокислоте серину, а не лейцину, как в клетках почти всех других живых форм. В автономной белокобразующей системе митохондрий клеток млекопитающих триплет и(м)РНК АУА соответствует аминокислоте метионину, тогда как в цитоплазме этих же клеток - изолейцину. Триплеты ТЦГ и ТЦЦ митохондриальной ДНК некоторых видов организмов не кодируют аминокислот, являясь нонсенс-кодонами. В приведенных примерах функционально-генетические особенности поименованных кодонов воспроизводятся на постоянной основе, что

Источник KingMed.info

дает основания рассматривать эти особенности как следствие своеобразия эволюционного процесса.

Во всех кодовых системах записи выделяют буквы (**алфавит**) и слова (**словарь**) текста. В кодовой системе нуклеиновых кислот (ДНК, РНК) буквы - это нуклеотиды (**4-буквенный алфавит**), а слова - тройки нуклеотидов или триплеты, которым соответствуют отдельные аминокислоты (**61-словный словарь**, включая **синонимы**).

Изменения в нуклеотидных последовательностях (генетических текстах) ДНК приводят к искажению информации и носят название генных или истинных мутаций. Такие изменения состоят в замене одного смыслового триплета на другой или нонсенс-кодон, выпадении или вставках нуклеотидов, что приводит к сдвигу рамки считывания биоинформации. У людей известно несколько сотен (из 5 тыс. генных болезней, выявленных на 2004 г.) наследственных болезней, для которых обнаружен мутировавший ген и описан фенотипический эквивалент мутации. В эту группу входят ахондроплазия (характерный признак - непропорциональная карликовость), вызываемая заменой гуанилового нуклеотида на цитидиловый в гене рецептора гормона роста, серповидноклеточная анемия (характерный признак - эритроциты серповидной формы в связи с понижением растворимости и повышением степени полимеризации гемоглобина), вызываемая заменой в гене β -глобина в 6-м положении триплета глутаминовой кислоты на триплет валина, α -талассемия (характерный признак - гемолитическая анемия в связи с аномальной структурой гемоглобина по α -глобину), вызываемая выпадением некоторого количества нуклеотидов в гене α -глобинового кластера, невосприимчивость людей к вирусу иммунодефицита человека (ВИЧ), обуславливаемая выпадением части нуклеотидов (ДНК-текста) в гене *ccr5* (кодирует белок-рецептор для локальных регуляторов клеточной активности β -цитоклинов; мутантный белок лишен аминокислотной последовательности, необходимой для проникновения вируса в клетки).

2.4.5.3. Передача генетической информации в ряду клеточных поколений.

Самокопирование или репликация ДНК

В земной жизни способом образования новых клеток является митотическое деление уже существующих. Этот процесс организован в форме митотического (пролиферативного) цикла, решающего важнейшую биоинформационно-генетическую задачу - обеспечение клеток дочерних поколений генетической информацией, полноценной в количественном и качественном (смысловом) отношении. Структура цикла и принципы его регуляции рассмотрены в главе 3. Здесь же речь идет о процессе **самокопирования**

(**самовоспроизведения**) или **реплика-ции**¹ ДНК в синтетическом (S) периоде интерфазы митотического цикла или же в гаметогенезе - перед первым делением мейоза.

Генетический материал эукариот имеет хромосомную организацию. В каждой хромосоме находится комплекс из двух взаимокомплементарных молекул (цепей) ДНК, закрученных в спираль. В ходе репликации вдоль каждой такой молекулы (цепи) «строится» комплементарная полинуклеотидная цепь. Репликация ДНК, таким образом, представляет собой **симметричный** процесс в том смысле, что обе молекулы биспирали выполняют роль **матриц**. Дезоксирибонуклеотиды выстраиваются в дочернюю молекулу в соответствии с **правилом комплементарности**: адениловый нуклеотид (А) встает в пару с тимидиловым (Т), а гуаниловый (Г) с цитидиловым (Ц) и наоборот. В итоге на основе одной биспирали ДНК возникают две, идентичные по информационному наполнению. Способ удвоения, при котором каждая возникающая вследствие репликации двойная спираль образована одной предшествующей материнской молекулой ДНК и одной заново образованной дочерней, называют **полуконсервативным** (рис. 2.25).

Источник KingMed.info

ДНК эукариот удваивается не одним блоком от начала и до конца биспирали, а участками или **репликационными** со средним размером порядка 30 мкм (1600 тыс. нуклеотидов в так называемой лидирующей цепи биспирали ДНК, см. здесь же, ниже). В ДНК хромосом соматической клетки человека насчитывается до 50 тыс. репликационных. В некоторых репликационных удвоение ДНК происходит одновременно, в других - в раз-

¹ Термин «репликация» обычно используют для обозначения самокопирования ДНК; термин «редупликация» чаще используют для обозначения удвоения хромосом.

ное время. Так, репликация ДНК гетерохроматиновых участков, будучи наиболее поздней, осуществляется в конце периода S. ДНК центромерных отделов хромосом удваивается даже не в периоде S интерфазы, а в начале анафазы предыдущего митоза непосредственно перед расхождением дочерних хромосом.

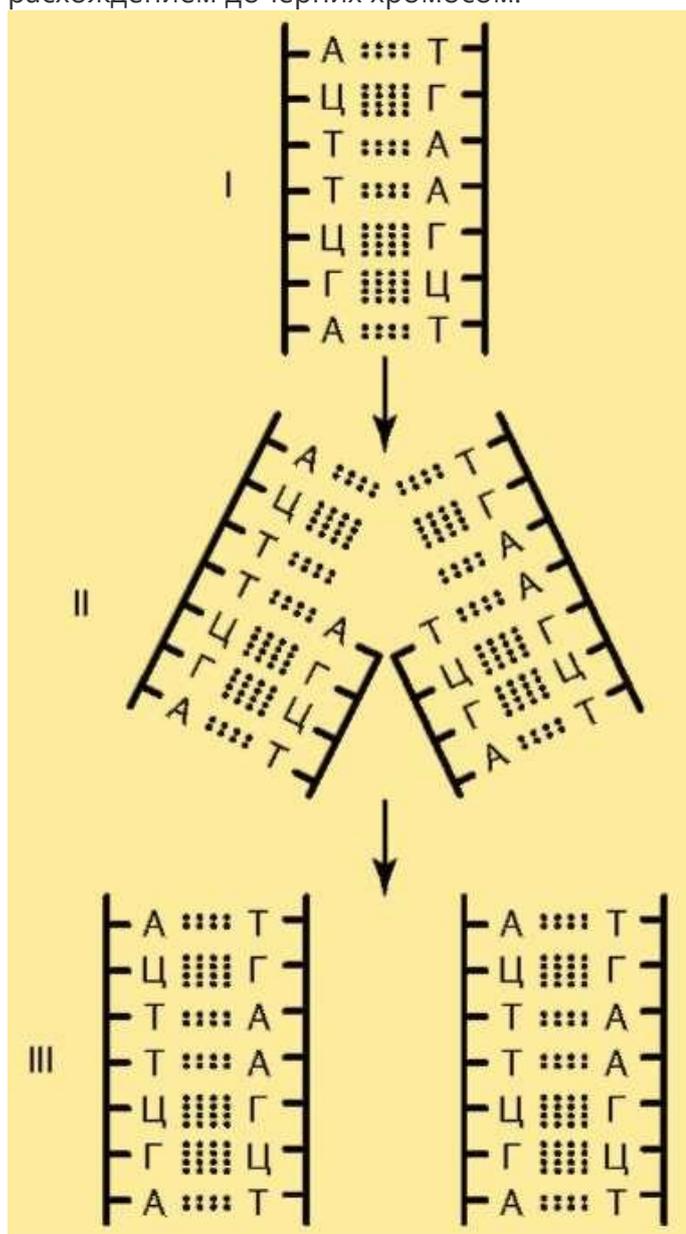


Рис. 2.25. Полуконсервативный способ редупликации ДНК: I - материнская биспираль ДНК; II - достраивание комплементарных полинуклеотидных цепей; III - две дочерние биспирали ДНК

Самоудвоение происходит группами по 10-100 репликационных. Репликационный формат самокопирования ДНК дает выигрыш по времени. Если бы молекула ДНК реплицировалась

Источник KingMed.info

одним репликоном, то при скорости синтеза у человека порядка 0,5 мкм/мин (в среднем 100 п.н./с у эукариот и 1500 п.н./с у прокариот) на удвоение хромосомы 1 (длина 8 см) потребовалось бы около 3 мес. Благодаря полирепликонной организации процесс самоудвоения всей ДНК в S периоде интерфазы занимает у млекопитающих, в среднем, 7-12 ч *in vivo* и 6-8 ч *in vitro*. Количество точек начала репликации (активируемых репликонов) и ее скорость меняется в зависимости от стадии индивидуального развития организма, типа клеток и стадии гистогенеза, на которой они находятся, условий их существования. Так, в сперматогониях на одну хромосому приходится в

среднем порядка 40 точек начала репликации (продолжительность периода S 15 ч), а на более поздних стадиях сперматогенеза в сперматоци-тах хромосомы имеют по 5-6 этих точек (продолжительность периода S 100 ч).

Для того чтобы пошла репликация, необходим **пул субстратов (предшественников)** в высоко энергизированном состоянии - **дезоксирибонуклеозидтрифосфаты тимина, аденина, цитозина и гуанина**.

В процессе репликации ДНК выделяют фазы **инициации** (начало, старт), **элонгации** (удлинение, приращение) и **терминации** (завершение, окончание).

Хотя сама репликация происходит в периоде S (синтетический) интерфазы митотического цикла, **пререпликативный комплекс** образуется в периоде G1 (пресинтетический, постмитотический) интерфазы. Это сложный ферментный комплекс, включающий 15-20 белков, в частности, **инициирующие («узнающие») белки**, такие как *ORS*, *Cdc6* и *Mcm*. Названный комплекс, благодаря белкам *ORS*, связывается с ДНК в **точках инициации (начала) репликации**. Отличительная черта этих точек - богатство парами А-Т. В таких парах 2 (а не 3, как в парах Г-Ц) водородные связи, что облегчает местную (в точке инициации) денатурацию ДНК с расхождением молекул двойной спирали. Образующиеся при этом одноцепочечные участки ДНК связываются **дестабилизирующими белками** комплекса (***RPA* - Replication Protein A** эукариот или ***SSB* - Single Strand Binding proteins** прокариот), молекулы которых выстраиваются вдоль полинуклеотидных цепей-матриц и «растягивают» их, делая азотистые основания доступными для присоединения нуклеотидов. Благодаря описанным событиям между соседними точками начала репликации образуется структура, получившая название «**репликативный глаз**» и соответствующая участку ДНК с разошедшимися («открывшимися» для репликации) полинуклеотидными цепями материнской биспиралы. В точках начала репликации (точки *ori*) образуются **репликативные вилки**, начинающие процесс в двух взаимопротивоположных направлениях. С этого момента следует говорить не о **пре-**, а о **репликативном комплексе** (рис. 2.26). Такие комплексы являются мультимакромолекулярными образованиями, участники которых - специальные белки, в том числе ферменты - обеспечивают три функции: связь необходимых белков, включая ферменты, с точками начала репликации, раскручивание молекул ДНК и ее местную (в зоне репликации) денатурацию, непосредственно репликацию.



Рис. 2.26. Репликационный комплекс (репликационная вилка): главные участники процесса самокопирования ДНК (схема)

Разделение закрученных в биспираль полинуклеотидных цепей ДНК осуществляется ферментом **геликазой** при участии дестабилизирующего белка RPL. Местное разделение полинуклеотидных цепей при сохранении двуцепочечной структуры на остальном протяжении биспирали должно было бы приводить к образованию супервитков перед репликационной вилкой. Для снятия напряжения, с необходимостью возникавшего бы в такой ситуации, и создания условий для поступательного продвижения репликационной вилки вся материнская биспираль должна была бы быстро вращаться вокруг своей оси. Это высоко энергозатратный процесс. Эволюция нашла выход: ферменты **ДНК топоизомеразы I и II**, разрывая, соответственно, одну или обе цепи биспирали ДНК, создают возможность для локального вращения, что ослабляет напряжение и препятствует образованию супервитков.

Ферментом, катализирующим образование дочерних полинуклеотидных цепей, является **ДНК-полимераза**, представляющая собой сложный мультимакромолекулярный комплекс. В репликативном образовании ДНК эукариот на отдельных этапах участвуют разные ферменты с функцией ДНК-полимеразы. На старте процесса функционирует комплекс из ферментов α **ДНК-полимеразы** и **праймазы** (ферменту праймазе принадлежит роль **РНК-полимеразы**, что необходимо для синтеза РНК-праймера, см. здесь же, ниже). Указанный комплекс, будучи вытесненным с 3'-конца начавшей рост полинуклеотидной цепи, уступает место δ **ДНК-полимеразе**. В клетках эукариот присутствуют также β , ϵ **ДНК-полимеразы**, участвующие в процессах репарации молекулярных повреждений ДНК, и γ **ДНК-полимераза**, катализирующая репликацию ДНК митохондрий.

ДНК-полимеразы не способны начать синтез полинуклеотида самостоятельно путем соединения двух дезоксирибонуклеозидтрифосфатов. Они лишь присоединяют при помощи фосфодиэфирной связи трифосфонуклеотид-предшественник к уже имеющейся нуклеотидной цепи на 3'-конце. В связи с этим инициация репликации ДНК требует предварительного образования **затравки** или **праймера** - короткого фрагмента РНК, образующегося при участии репликационного белка **RPA** и ферментного комплекса « α ДНК-полимераза-праймаза» (рис. 2.27). Из схемы следует, что матрицей для репликации может служить только молекула ДНК, несущая спаренный с ней РНК-праймер, который имеет свободный 3'-ОН-конец.

Источник KingMed.info

Построение одной из дочерних полипептидных цепей (**лидирующая**) на материнской матрице опережает построение второй (**запаздывающая**). **Элонгацию** обеих полинуклеотидных цепей ДНК катализирует фермент δ ДНК-полимераза. Кроме собственно фермента, в репликативный комплекс входят

белки **RFC** - **Replication Factor C** и **PCNA** - **Proliferating Cell Nuclear Antigen**. Первый блокирует наращивание РНК-праймера на 3'-конце сверх требуемой длины. Второй играет роль «прищепки» или зажима, крепящего δ ДНК-полимеразу к реплицируемой полинуклеотидной цепи. Участки ДНК лидирующей цепи синтезируются в пределах репликонов как непрерывные достаточно длинные фрагменты, тогда как ДНК запаздывающей цепи образуется короткими (у эукариот 1000-2000 нуклеотидов) участками - **фрагменты Ока-заки**. Смысл образования запаздывающей цепи фрагментами Оказаки заключается в том, что в пределах такого фрагмента наращивание молекулы происходит, как обычно, в направлении от 5' к 3'-концу (по типу шитья «назад иголкой»), так как по-иному ДНК-полимераза не работает.

Завершение репликации (**терминация**) состоит в удалении РНК-праймеров, заполнении нуклеотидами образующихся при этом «брешей», «сшивании» фрагментов ДНК для восстановления целостности молекулы. В этой фазе процесса участвует группа ферментов: **РНК-аза H** или просто **нуклеаза H** (удаляет праймер, разрушая РНК в гибридных

РНК/ДНК-комплексах; предположительно, у эукариот эту функцию выполняет δ ДНК-полимераза), β **ДНК-полимераза** (заполняет «бреши»), **ДНК-лигаза** («пришивает» фрагмент ДНК, заменивший РНК-праймер, к дочерней цепи). У эукариот репликационный синтез ДНК прекращается **при встрече репликационных вилок** соседних репликонов.

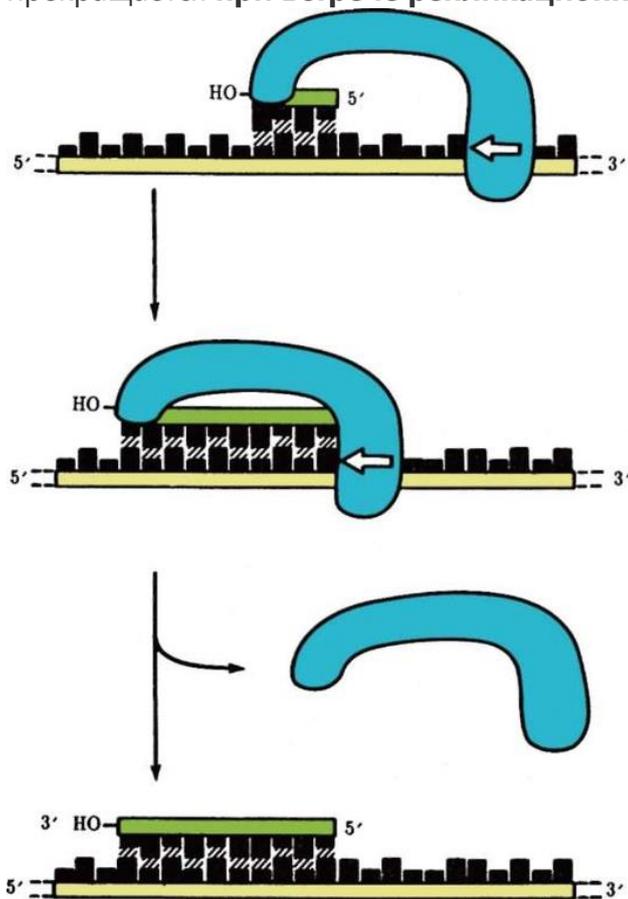


Рис. 2.27. Образование РНК-затравки, катализируемое РНК-праймазой, в дебюте репликации ДНК (схема)

Источник KingMed.info

Полирепликонный формат построения лидирующей цепи и образование запаздывающей цепи фрагментами Оказаки приводит к тому, что по завершении процесса дочерние полинуклеотиды ДНК представлены отдельными участками. Целостность (непрерывность) молекул восстанавливается благодаря активности фермента **ДНК-лигазы**, катализирующего, как и ДНК-полимераза, образование межнуклеотидной фосфодиэфирной связи. Особенность действия названного фермента в том, что он «сшивает конец в конец» только такие одноцепочечные участки, которые находятся в составе двухцепочечной ДНК.

Самокопирование вирусных и бактериальных ДНК имеет особенности. **У прокариот** ДНК реплицируется не прерываясь (как один репликон) с одной точки начала репликации и с образованием двух ре-пликационных вилок. Так как реплицирующаяся хромосома (ДНК) исходно кольцевой формы по конфигурации напоминает греческую букву θ (тета), то весь процесс получил название **θ -репликации**. У ряда вирусов - бактериофаг λ - наблюдается репликация по типу «катящегося кольца» или **σ -репликация**. Ключевой фермент репликации ДНК прокариот - **ДНК-полимераза III**. Функционируя в комплексе примерно с 20 белками, названный фермент строит единым блоком лидирующую и запаздывающую (фрагменты Оказаки) полинуклеотидные цепи. Завершение процесса в запаздывающей цепи требует подключения **ДНК-полимеразы I**, которая заполняет дезоксирибонуклеотидами участки, образующиеся на месте удаляемых праймеров. ДНК-полимераза I в рассматриваемом процессе выполняет три функции. Наряду с катализом образования ДНК на месте РНК-праймеров (ДНК-полимеразная активность), она обеспечивает удаление этих праймеров в запаздывающей цепи («передняя» или «от 5' к 3'» экзонуклеазная активность), а также редактирование ДНК-текста путем удаления ошибочно встроившихся неспаренных нуклеотидов на растущем конце цепи («задняя» или «от 3' к 5'» экзонуклеазная активность). ДНК-полимераза I прокариот является, по-видимому, функциональным аналогом одновременно нуклеазы η , β ДНК-полимеразы и δ ДНК-полимеразы эукариот. ДНК-полимераза III (функциональный аналог α и δ ДНК-полимераз эукариот) лишена «передней» экзонуклеазной активности. **ДНК-полимераза II** участвует в процессе молекулярной репарации повреждений бактериальной ДНК.

Завершение (**терминация**) репликации у прокариот характеризуется своими особенностями. В ДНК **прокариот** присутствует участок из нескольких коротких (23 п.н.) последовательностей - **сайты *ter***. Репликация завершается по достижении репликационной вилкой указанного участка в том случае, если с вышеназванными сайтами связывается продукт **гена *tus***.

Известны примеры, когда механизм репликации, не будучи связанным с клеточным размножением, решает другие задачи. Это происходит,

в частности, при амплификации (увеличение числа ДНК-копий путем многократного самокопирования) генов рРНК в профазе первого деления мейоза при образовании яйцеклеток у амфибий (см. п. 2.4.3.4-а). В описанном случае используется вариант σ -репликации.

Самокопирование **митохондриальной ДНК** осуществляется с участием фермента γ ДНК-полимеразы. Репликация ДНК - сложный процесс. У человека, например, за процесс репликации и контроль клеточного (митотического) цикла ответственно более 400 генов. Некоторые из них активны на стадии инициации, другие - на стадии элонгации. Далеко не все детали организации и функционирования «репликационной машины» в достаточной мере ясны.

2.4.5.3-а. Защита и/или минимизация искажения генетической информации на уровне ДНК

Источник KingMed.info

Важным фактором сохранения биоинформации во времени (в ряду поколений клеток и организмов) является химическая инертность ДНК (см. п. 2.4.5.1). Одного этого, однако, недостаточно. Изменения в ну-клеотидных последовательностях ДНК, искажающие смысл генетической информации, происходят в силу неизбежных ошибок, например, репликации, рекомбинации, репарации ДНК, а также под воздействием агрессивных внутренних (активные формы кислорода или свободные радикалы, температурные колебания) или внешних (кванты космической энергии, УФ и инфракрасное, ионизирующие излучения, определенные химические соединения) агентов.

Механизм репликации ДНК характеризуется исключительной (1 ошибка на 10^9 - 10^{10} спариваний комплементарных нуклеотидов), но не абсолютной точностью. В обеспечении высокой надежности репликации важную роль играет фермент ДНК-полимераза, к функциям которого относится выбор «правильного» нуклеотида из пула нуклео-зидтрифосфатов (АТФ, ТТФ, ГТФ и ЦТФ) и точное присоединение его по длине матричной материнской цепи ДНК, т.е. его включение в строящиеся дочерние цепи (лидирующую и запаздывающую) в надлежащем месте.

Ошибки спаривания (включение ошибочных нуклеотидов), тем не менее, имеют место. Нередко они зависят от образования в клетке химически измененных (таутомерных, возникают с частотой 1 на 10^4 - 10^5 «правильных») форм азотистых оснований. Таутомерная форма, например, цитозина образует пару не с гуанином, а с аденином. Тауто-мерные основания существуют, как правило, недолго. При их переходе в обычную форму в растущей дочерней цепи ДНК в соответствующих парах нуклеотидов нарушается правило комплементарности, что ведет к появлению неспаренных нуклеотидов. Включающийся

механизм **самокоррекции** или **редактирования** (англ. *proofreading*) **ДНК-текста** отщепляет «неправильный» нуклеотид. Функцию молекулярного редактирования выполняет фермент **ДНК-полимераза**, проявляя в данном случае каталитическую активность **нуклеазы**. «Редакторская» функция ДНК-полимеразы состоит также в том, что после того, как очередной дезоксирибонуклеотидтрифосфат-предшественник занял место по длине молекулы-матрицы, но до присоединения его к растущей дочерней цепи фермент изменяет свою трехмерную структуру (конформацию) и, если нуклеотид ошибочен, присоединения, скорее всего, не происходит.

По завершении акта редактирования ДНК-полимераза продолжает нуклеотид за нуклеотидом наращивать дочернюю цепь ДНК (рис. 2.28). Следствием саморедактирования (самокоррекции) является снижение частоты ошибок репликации на порядок или в 10 раз - с 10^{-5} до 10^{-6} .

Наряду с ошибками спаривания, причинами нарушения первичной структуры (последовательности нуклеотидов) ДНК и, следовательно, искажения биоинформации могут быть самопроизвольная (спонтанная) потеря полимером пуриновых азотистых оснований аденина и гуанина (апуринизация; в среднем за сутки диплоидная клетка теряет 5×10^4 пуринов, что, к примеру, за 70 лет - средняя продолжительность жизни человека в экономически развитых странах - в отсутствие процессов репарации привело бы к утрате ДНК порядка 25% соответствующих нуклеотидов), химическая модификация азотистых оснований путем присоединения метильных или этильных групп, дезаминирования цитозина, превращающегося при этом в урацил, сшивки соседних тиминных оснований под действием УФ-облучения, одноцепочечные разрывы молекул ДНК под воздействием рентгеновых лучей или двух-цепочечные под воздействием жесткого α -излучения. Большая часть изменений такого рода устраняется благодаря механизмам **молекулярной репарации (восстановления)**.

Источник KingMed.info

Различают **дорепликативную** (сопровождающую репликацию ДНК) и **пострепликативную** (затрагивающую уже образованные дочерние биспирали ДНК) **репарацию**.

В первом случае процесс начинается с **идентификации** заново образованной дочерней цепи, которая несет ошибку. При этом вторая, исходно материнская цепь биспирали сохраняет «правильную» после-

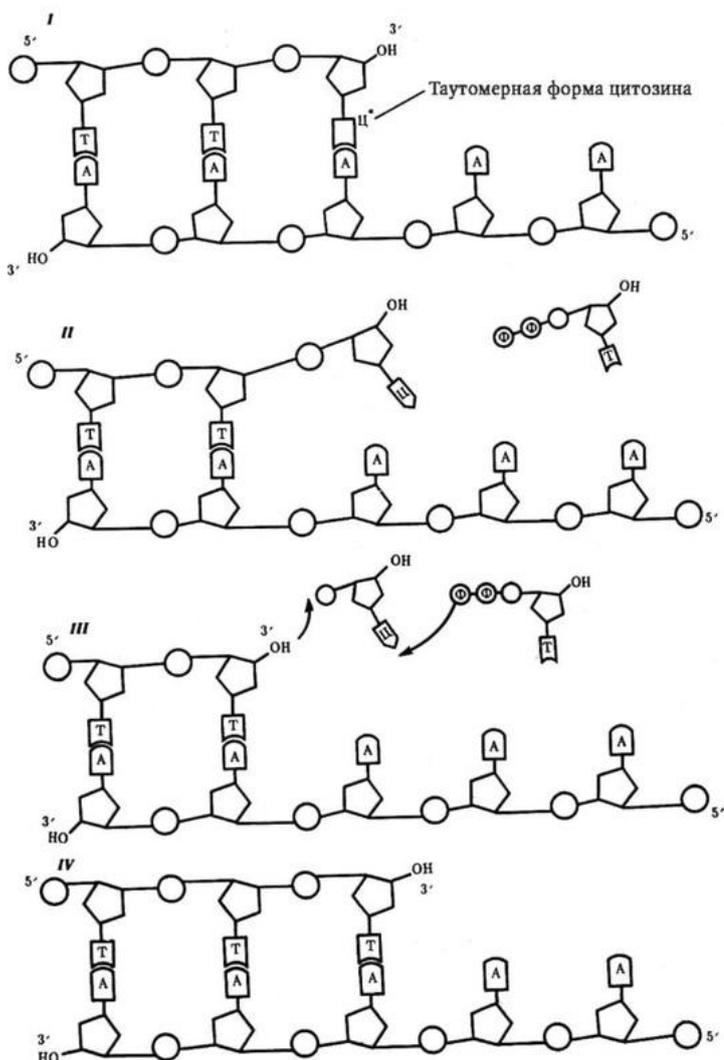


Рис. 2.28. Самокоррекция или молекулярное редактирование ДНК-текста в процессе репликации

довательность нуклеотидов. Разграничение в биспиралях материнской и дочерней цепей возможно в части случаев потому, что дочерние молекулы ДНК отличаются от материнских сравнительно низким уровнем метилирования. В других случаях основанием для разграничения являются разрывы по ходу дочерней цепи, в том числе (у высших организмов) по границам смежных репликалов. Следующий этап состоит в **обнаружении места ошибки** и его «**обозначении**». Нередко такое «обозначение» состоит в разрыве в точке повреждения фосфодиэфирной связи (например, при утрате пуриновых оснований, для чего необходим фермент **эндонуклеаза**). Затем включается фермент **экзонуклеаза**. На этой стадии измененный (и «помеченный») участок полимера вместе с примыкающими к нему нуклеотидами «**вырезается**» и **удаляется**. На его месте **ДНК-полимераза**, используя в качестве матрицы «нормальную» материнскую цепь, **достраивает** отсутствующий фрагмент с

Источник KingMed.info

соблюдением правила комплементарности нуклеотидов (рис. 2.29). Далее происходит **восстановление непрерывности** молекулы ДНК (фермент **ДНК-лигаза**). При химической модификации азотистых оснований путем дезаминирования, алкилирования и др. в репарации ДНК задействованы ферменты **ДНК-гликозилазы** числом около 20, распознающие соответствующие повреждения, которые удаляются с восстановлением требуемой нуклеотидной последовательности.

Если структурное нарушение молекулы ДНК состоит в образовании тиминовых димеров «-Т-Т-», удалению подлежит достаточно протяженный участок цепи ДНК, содержащей ошибку. Восстановление участка на месте «вырезанного» фрагмента происходит с использованием ферментов дореplikативной репарации, как это описано выше. «Брешь» заполняется «правильными» нуклеотидами с соблюдением правила комплементарности и целостность дезоксирибонуклеотида восстанавливается.

Механизмы молекулярной репарации ДНК разнообразны. Они отражают характер и условия возникновения молекулярных «дефектов». Механизмы, включающие момент «вырезания» измененных участков, объединены под общим названием **эксцизионной репарации**. Этими механизмами обеспечивается макромолекулярная репарация ДНК в буквальном смысле, так как «вырезанию» (эксцизия) подвержены измененные фрагменты биоинформационной молекулы, что в функционально-генетическом плане равнозначно удалению ошибки.

Иногда ошибки в виде тиминовых димеров, а также некоторые другие не исправляются описанным образом. В таких случаях включается

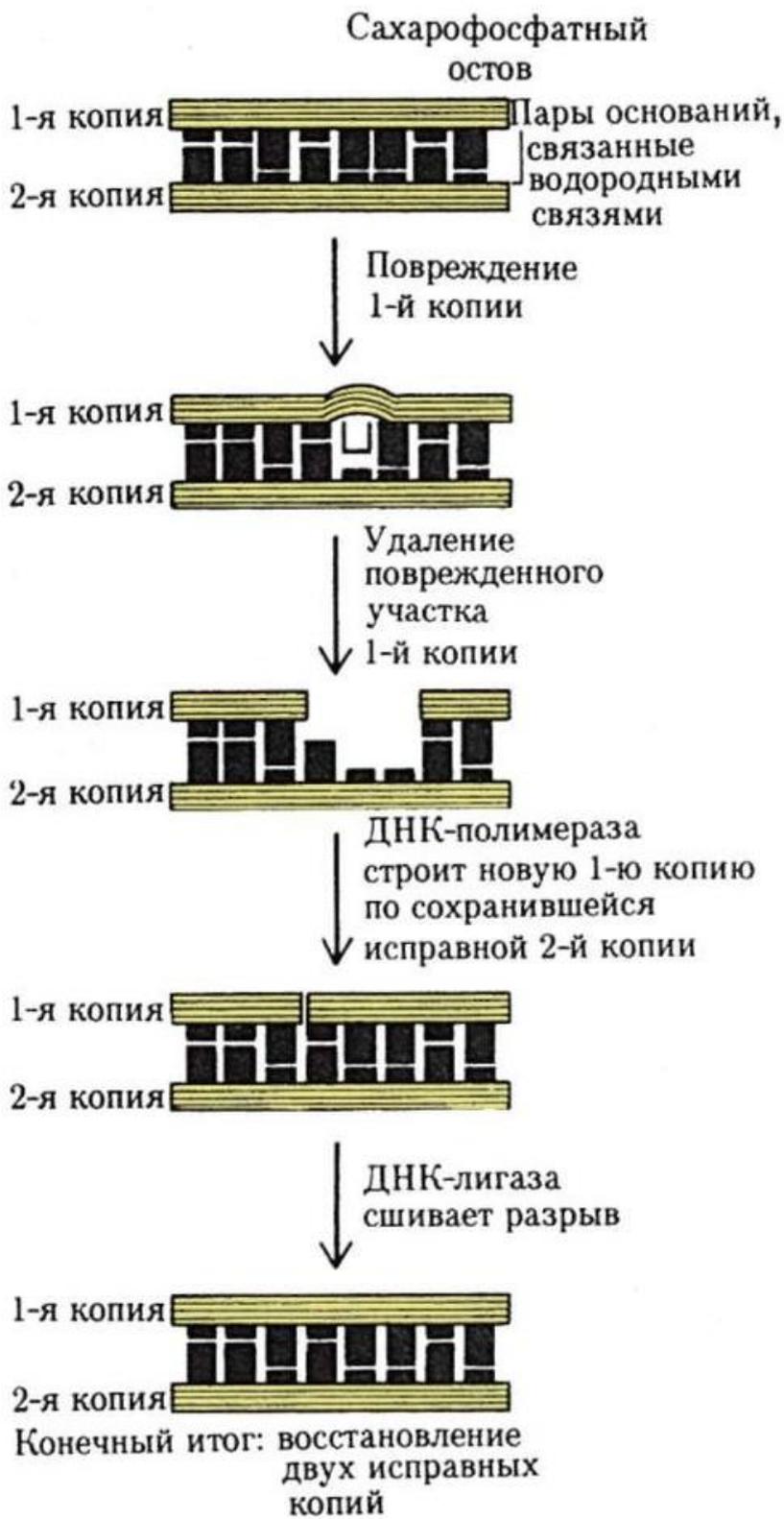


Рис. 2.29. Дорепликативная или эксцизионная репарация ДНК (схема)

механизм пострепликативной репарации, в основе которого лежит рекомбинация фрагментов молекул ДНК (рис. 2.30). Механизм постре-пликативной репарации лишен специфичности в том смысле, что в нем отсутствует момент узнавания повреждения. По существу, речь идет о возможности репликации на матрице поврежденной молекулы ДНК без удаления повреждения. Ошибка в нуклеотидной последовательности

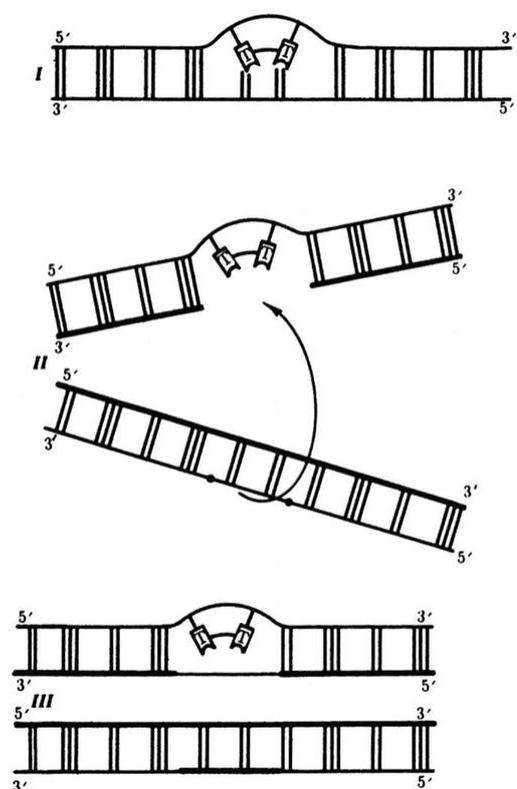


Рис. 2.30. Пострепликативная репарация ДНК (схема)

вновь образованной биспирали ДНК, таким образом, сохраняется, но может быть удалена в последующем с использованием эксцизионного (см. здесь же, выше) механизма. Процессы молекулярной репарации ДНК важны для обеспечения нормальной жизнедеятельности, о чем свидетельствуют серьезные с точки зрения нарушения здоровья людей фенотипические изменения в случае мутаций по соответствующим сайтам (генам). Классический пример - заболевание **пигментная ксеродерма** или **XP (xeroderma pigmentosum)**: греч. *xērós* - сухой, *derma* - кожа; лат. *pigmentum* - краска). У пациентов наблюдается повышенная чувствительность к солнечному (более точно, УФ) свету, что клинически проявляется в увеличении частоты развития рака слизистой оболочки полости рта в 20 тыс. раз, сокращении длительности жизни и др. Для названного наследственного заболевания характерен аутосомно-рецессивный тип наследования. Установлено несколько генетических форм заболевания (феномен генокопирования, см. п. 4.3.1.1). Все они связаны с мутациями и, следовательно, функциональной «дефектностью» генов, участвующих в контроле процессов репарации повреждений молекул ДНК ультрафиолетовым светом. Предположительно, при отдельных формах нарушено распознавание поврежденного участка, его эксцизия, механизм постре-пликативной репарации и др.

Если клетка попадает в крайне неблагоприятные условия, количество повреждений ДНК может достичь таких величин, что обычные механизмы репарации не справляются с их коррекцией. В подобных ситуациях активизируется «аварийная» группа **ДНК-репарирующих индуцибельных** (в данном случае, побуждаемых к активации обстоятельствами) **ферментов SOS-системы** (англ. «**Save Our Souls**» или «Спасите наши души» - международный сигнал бедствия на море и в воздухе). Особенность функционирования **SOS-системы** заключается в том, что восстановление целостности поврежденных молекул ДНК происходит в срочном порядке без соблюдения правила комплементарности, вследствие чего по завершении процесса в таких молекулах обнаруживается значительное число «свежих» мутаций. При очень высоком

Источник KingMed.info

количестве повреждений блокируется репликация ДНК и, как следствие, прохождение клеткой митотического цикла. Функционально-биологический смысл блока состоит в том, что клетка не делится и, следовательно, передачи в ряду поколений искаженной в связи с повреждениями ДНК информации не происходит.

Описанные выше способы коррекции и восстановления ДНК-текстов в случае искажения, назовем их активными, дополняются генетическими механизмами, блокирующими или снижающими неблагоприятные фенотипические последствия искажений, если они произошли и не были исправлены. Так, благодаря **диплоидности** эукариотических клеток измененные (мутировавшие) гены, если они проявляют свойство рецессивности, в гетерозиготах в формировании фенотипа не участвуют и, следовательно, не подпадая под действие естественного отбора, сохраняются в гено(аллело)фондах популяций. Свой вклад в минимизацию неблагоприятных фенотипических последствий нарушений в нуклеотидных последовательностях ДНК, состоящих в замене отдельных нуклеотидов, вносит **вырожденность генетического кода** (см. п. 2.4.5.2). Уместно вспомнить также явление **экстракопирования генов**, которые обуславливают контроль жизненно важных клеточных функций, в частности, кодирующих рРНК, тРНК, гистоны (см. п. 2.4.3.3). Механизмы такого рода можно назвать **естественными антимутационными**.

2.4.5.4. Внутриклеточное движение биологической (генетической) информации. Необходимые условия

Генетическая информация ДНК хромосом в обеспечении процессов жизнедеятельности клеток непосредственно не участвует. Механизмом актуализации этой информации является внутриклеточное образование белковых молекул с присущими им биокаталитической (ферментной), структурной, транспортной, рецепторной, сигнальной и другими функциями. Роль посредника, в задачу которого входит «перевод» наследственной информации с языка нуклеотидных последовательностей ДНК на язык аминокислотных последовательностей белков (полипептидов), играют **рибонуклеиновые кислоты (РНК)**.

В клетке присутствует значительное число разновидностей РНК, принимающих участие во многих жизненно важных процессах. Ранее мы познакомились с РНК-праймерами (см. п. 2.4.5.3), запускающими репликацию ДНК, и *snoRNA* ядрышек (см. п. 2.4.3.3).

В отличие от ДНК, молекулы рибонуклеиновых кислот представлены единичной полинуклеотидной цепью, по ходу которой, однако, нередко и закономерно образуются двухцепочечные участки. Так, в молекулах транспортных РНК, наряду с пятью одноцепочечными участками, имеется 4 двухцепочечных.

Полинуклеотидная цепь РНК построена из четырех видов нуклеотидов. Каждый из них представлен пятиуглеродным сахаром **рибозой**, одним из четырех **азотистых оснований (аденин, гуанин, цитозин, урацил)** и остатком **фосфорной кислоты**. Таким образом, отличия между ДНК и РНК касаются сахара (дезоксирибоза/рибоза) и одного из четырех азотистых оснований (тимин/урацил). Все РНК образуются на молекулах ДНК при участии ферментов РНК-полимераз с соблюдением правила комплементарности: адениловому нуклеотиду ДНК соответствует уридилловый нуклеотид РНК, цитидиловому - гуаниловый и гуаниловому - цитидиловый. В молекулах РНК встречаются **химически модифицированные** (неканонические) **нуклеотиды** (см. здесь же, ниже: например, инозин антикодонов транспортных РНК). Их количество, как правило, невелико (**минорные нуклеотиды**), но в аланино-вой тРНК на их долю приходится 13%.

Источник KingMed.info

В отличие от репликации, когда обе полинуклеотидные цепи двойной спирали ДНК функционируют в качестве матриц, матрицей для образования РНК служит одна (**матричная**) полинуклеотидная цепь, комплементарная второй (**кодогенной**) цепи, на которой, собственно, и расположены гены (рис. 2.31). Таким образом, процесс транскрипции является **асимметричным**. Особенность матричной цепи ДНК состоит в том, что на ней формируется открытый для РНК-полимеразы 3'-конец.

На рис. 2.31 видно, что с учетом замены тимидиловых (Т) нуклеотидов на уридилиновые (У) последовательность кодонов и(м)РНК идентична последовательности триплетов кодогенной молекулы биспиральной ДНК.

Кодогенная цепь ДНК	5'	-ТТЦ-АГТ-ЦАГ-ГАЦ-ГАТ-АЦГ-	3'
Матричная цепь ДНК	3'	-ААГ-ТЦА-ГТЦ-ЦТГ-ЦТА-ТГЦ-	5'
и(м)РНК	5'	-УУЦ-АГУ-ЦАГ-ГАЦ-ГАУ-АЦГ-	3'

Рис. 2.31. Образование и(м)РНК на матричной цепи биспиральной ДНК

В биосинтезе белков в эукариотических клетках задействованы три типа РНК: информационная (матричная), или **и(м)РНК**, рибосомные, или **рРНК**, и **тРНК**. Соответственно, в этих клетках имеется три РНК-полимеразы - I, II и III. **РНК-полимераза I** участвует в синтезе молекулы-предшественницы пре-рРНК, **РНК-полимераза II** - ключевой фермент в транскрипции структурных (смысловых) генов, кодирующих аминокислотные последовательности белков, а также

нуклеотидные последовательности *snoРНК* и некоторых *snRNA* (англ. *small nuclear RNA* или малых ядерных РНК, см. здесь же, ниже). **РНК-полимераза III** участвует в транскрипции генов тРНК, некоторых *snRNA* и других преимущественно низкомолекулярных видов РНК. Отдельные РНК-полимеразы эукариот различают «свои» промоторы, чем объясняется транскрибирование ими разных видов РНК.

В прокариотических клетках функционирует одна РНК-полимераза. В стартовый мультибелковый ферментный комплекс входит диссоциируемая субъединица - фактор σ . Этот фактор находит нуклеотидную последовательность ДНК (промотор), создающую условия для начала синтеза РНК, обеспечивает, присоединяясь к ДНК, расхождение цепей биспиральной на коротком протяжении и на одной из цепей строит РНК-олигонуклеотид длиной порядка 10 нуклеотидов. В этот момент фактор σ «покидает» стартовый комплекс, а процесс транскрипции при участии РНК-полимеразы переходит в фазу элонгации (наращивания) строящейся молекулы РНК путем последовательного присоединения на ее 3'-конце рибонуклеозидтрифосфатов-предшественников. Процесс продолжается до момента, когда фермент, следующий вдоль матричной цепи ДНК, достигает кодона-терминатора.

Ориентированный на обеспечение общеклеточных и специальных функций внутриклеточный трафик биоинформации - многоступенчатый процесс. В нем выделяют перенос (**транскрипция**) информации, записанной в нуклеотидных последовательностях (сайтах, генах) ДНК, на **пре-и(м)РНК транскрипт**, **посттранскрипционные изменения** последнего, включающие процессинг пре-и(м)РНК транскрипта с образованием **зрелой и(м)РНК**, **«выбраковку» и(м)РНК с ошибками** (см. п. 2.4.5.7), **транспорт и(м)РНК** в цитоплазму, перенос (**трансляция**) с нее информации в процессе сборки на рибосомах (полисомах) полипептидов, **посттрансляционные изменения**, предусматривающие **«выбраковку»**

дефектных полипептидов, транспорт белков в соответствующие внутриклеточные структуры или выведение их из клетки, образование вторичной, третичной (**фолдинг**) структуры белковых молекул и надмолекулярных мультимерных белковых комплексов (четвертичная структура). Одновременно на рДНК (см. здесь же, ниже) синтезируются молекулы **пре-рРНК транскрипта**, происходит их процессинг, транспортировка в цитоплазму с образованием там рибосом. Для того чтобы процесс трансляции пошел, необходимы также сервисные и регуляторные факторы (главным образом, белковые), ферменты, низкомолекулярные предшественники-аминокислоты, набор необходимых тРНК. Процесс транскрипции, процессинга и ядерно-цитоплазматического транспорта и(м)РНК рассмотрен в деталях ниже (см. п. 2.4.5.5).

У эукариот образование **рРНК** (см. п. 2.4.3.3) происходит в зоне расположения кластеров соответствующих генов (рДНК, ядрышковые организаторы) одним блоком (**45S пре-РНК транскрипт**) и катализируется ферментом РНК-полимеразой I. В результате процессинга пре-рРНК транскрипта образуются молекулы 28S, 18S и 5,8S рРНК (см. рис. 2.20).

Гены **5S рРНК** транскрибируются отдельно ферментом РНК-полимеразой III. Особенностью рибосомных РНК является их относительное богатство гуаниловыми и цитидиловыми нуклеотидами. Во вторичной структуре рРНК много двухцепочечных участков и петель.

Транспортные РНК, или тРНК - это небольших размеров (не более 100 нуклеотидов, наиболее часто - 76) молекулы, напоминающие по форме в схематическом изображении клеверный лист (рис. 2.32). «Стебли» с петлями образуются благодаря внутреннему спариванию азотистых оснований. В функциональном отношении наиболее важны участки: **3'-ЦЦА** («гибкая рука») или **акцепторный**, к которому присоединяется аминокислота, и **антикодоновый** или **триплет неспаренных нуклеотидов**, спаривающийся с кодоном и(м)РНК.

Специфическое соединение («зарядка») тРНК со «своей» аминокислотой происходит в два этапа (рис. 2.33). На первом аминокислота взаимодействует с АТФ. Итогом является ее активация, то есть переход в высоко энергизированное состояние. На втором этапе такая аминокислота при участии фермента **аминоацил-тРНК-синтетазы** присоединяется к 3'-концу (акцепторному) тРНК с образованием **ами-ноацил-тРНК** или **aa-тРНК**. В этой форме аминокислота готова к участию в процессе трансляции.

Так как количество смысловых кодонов для отдельных аминокислот равно 61, логично предположить, что число разных тРНК такое же. На самом деле количество тРНК, хотя и выражается десятками (порядка 40 тРНК задействовано в биосинтезе белка в цитоплазме эукариотических клеток; в митохондриях используется 22 разных тРНК), но меньше названной цифры за счет того, что антикодон одной тРНК может узнавать несколько кодонов, правда, если они «шифруют» одну и ту же аминокислоту. Это обеспечивается механизмом **неоднозначного спаривания** или «**качания**» тРНК. Суть его состоит в том, что благодаря гибкости близлежащего к антикодону участка молекулы транспортной РНК третий нуклеотид антикодона, например У, взаимодействует в ко-

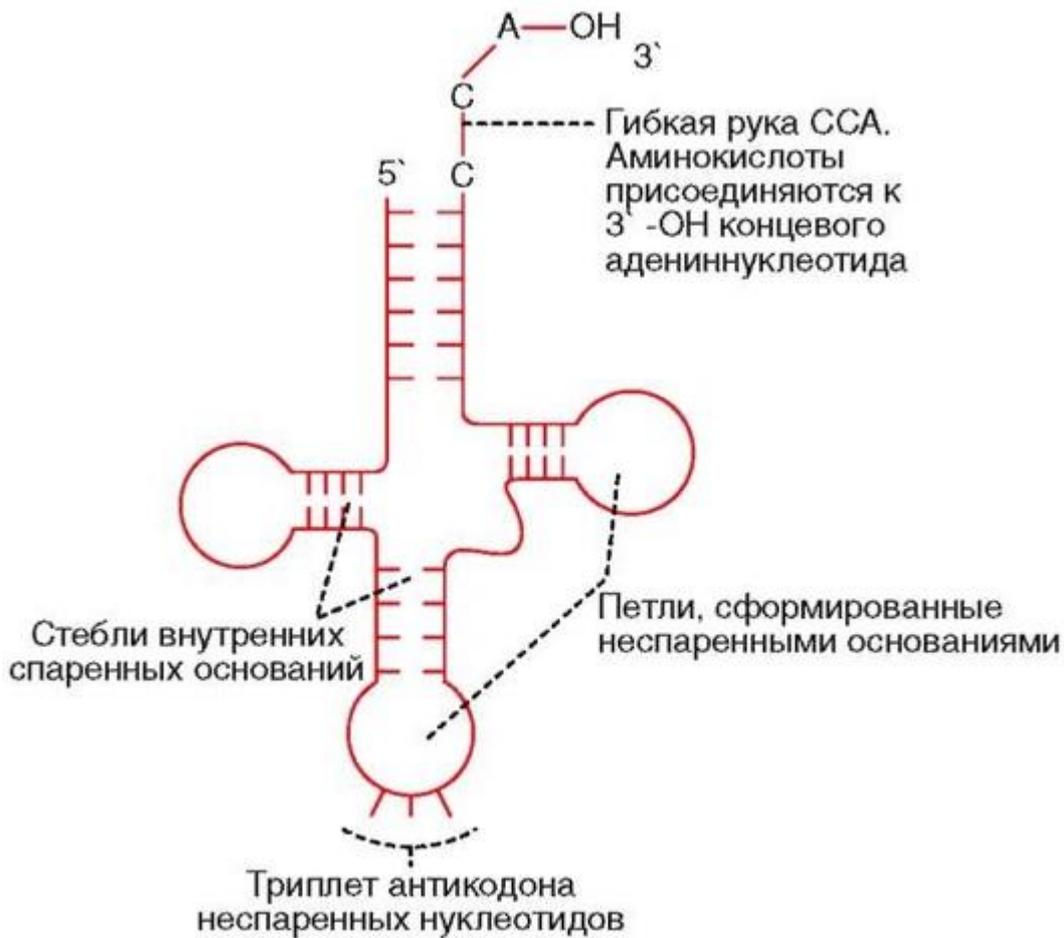


Рис. 2.32. Структура тРНК (клеверный лист) в схематичном изображении

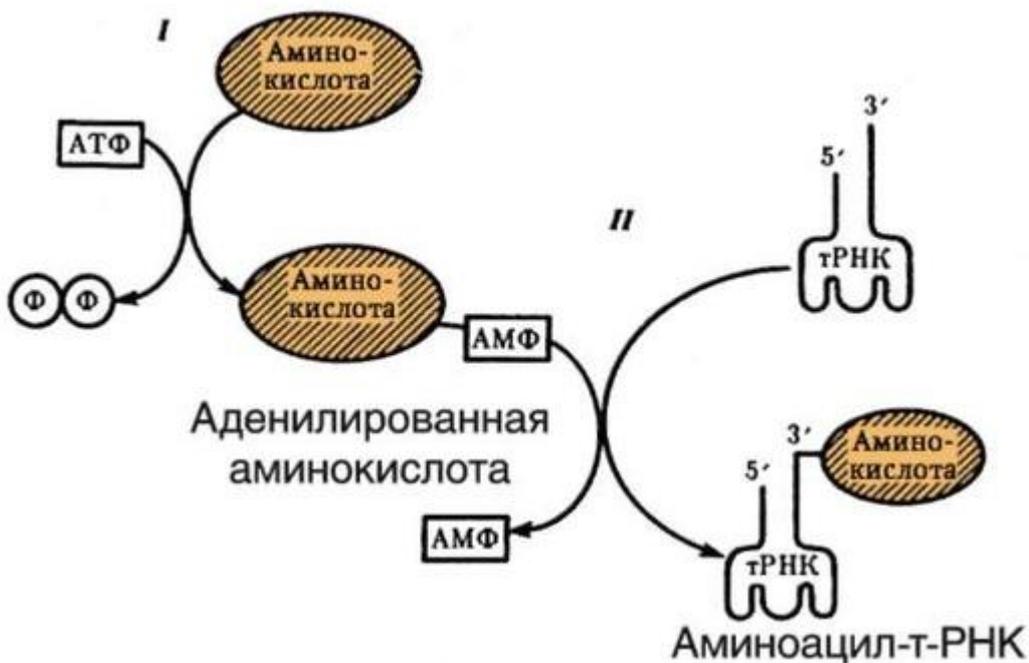


Рис. 2.33. Образование аминоацил-тРНК

доне не только с А (канонический вариант), но и с Г, а Г не только с Ц (канонический вариант), но и с У. Таким образом, один и тот же антикодон «3'ЦГГ5'» взаимодействует с кодонами «5'ГЦУ3'» и «5'ГЦЦ3'». Оба названных кодона соответствуют аминокислоте аланин. Для более

Источник KingMed.info

гибкого взаимодействия «антикодон тРНК - кодон и(м)РНК» анти-кодон нередко содержит нестандартное азотистое основание, в частности, гипоксантин (или инозин), узнающий Ц, У и А нуклеотиды кодонов (читается в направлении от 5' к 3'). Молекула тРНК связывается с кодоном одной аминокислоты, если третий нуклеотид анти-кодона (читается в направлении от 3' к 5') Ц или А, с кодонами двух аминокислот, если третий нуклеотид У или Г, и с кодонами трех аминокислот, если третий нуклеотид инозин. Молекулы тРНК образуются на матрице ДНК при участии фермента РНК-полимеразы III (также как 5S рРНК).

2.4.5.5. Внутриклеточное движение генетической (биологической) информации. Транскрипция и посттранскрипционные процессы. Транспорт и(м)РНК из ядра в цитоплазму

Транскрипция - процесс образования молекул РНК на матричной полинуклеотидной цепи двойной спирали ДНК (см. рис. 2.31). Среди РНК выделяют информационные, рибосомные и транспортные, принимающие непосредственное участие в биосинтезе белка, а также ряд других видов, главным образом, низкомолекулярных, выполняющих регуляторные, коценсусные и иные функции (РНК-праймеры при репликации ДНК - см. п. 2.4.5.3, *snoRNA*, участвующие в процессинге пре-рРНК транскрипта - см. п. 2.4.3.3). Если иметь в виду внутриклеточный трафик генетической (биологической) информации, то речь должна идти, прежде всего, об информационных (мессенджер; англ. *messenger*, см. п. 2.4.2) РНК - и(м)РНК.

Для осуществления транскрипции необходимо наличие, кроме ДНК-матрицы, пула предшественников (аденин-, гуанин-, цитозин- и урацилтрифосфатнуклеотиды) и соответствующего фермента (РНК-полимераза). Большая роль принадлежит условиям, определяющим доступ РНК-полимеразы к ДНК и модификацию структуры двойной спирали, «разрешающую» считывание информации, а также синтез молекулы РНК, начинающийся и завершающийся в определенных точках матрицы. Речь, по существу, идет о протяженности гена или, в более общем виде, транскрибируемого сайта ДНК, длина которой заведомо меньше длины молекулы ДНК в хромосоме. Избирательная транскрипция генов, в частности, связанная с выполнением дифференцированной клеткой синтезов для нужд многоклеточного существа («*luxury proteins*» см. п. 2.4.4.4-е), требует включения функционально-генетических элементов эукариотического генома в регуляторный контур организма.

Это обеспечивается отчасти специальными (сервисные, коценсусные, регуляторные) нуклеотидными последовательностями ДНК, а отчасти подключением белков - общих и специфических транскрипционных факторов, энхансеров, сайленсеров (см. здесь же, ниже).

Транскрипция - **матричный процесс**, в котором выделяют стадии **инициации**, **элонгации** и **терминации**.

Представление о процессе считывания информации с ДНК дает знакомство со структурой **транскриптона**¹ - единицы транскрипции у эукариот, включающей как собственно биоинформативную часть, так и элементы, необходимые для инициации, осуществления, терминации и регулирования образования требуемых и(м)РНК (рис. 2.34). Некоторые элементы транскриптона определяют свойства зрелых и(м)РНК, например, продолжительность их жизни в цитоплазме и, следовательно, длительность периода синтеза, то есть количество соответствующих полипептидов (см. п. 2.4.5.6).

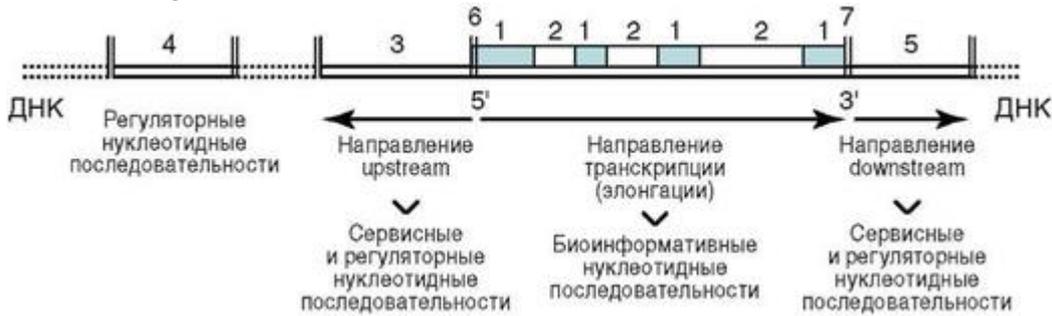


Рис. 2.34. Транскриптон эукариот (схема): 1 - экзоны (транскибируются, транслируются); 2 - интроны (транскибируются, не транслируются); 3 - 5` нетранслируемая последовательность; 4 - энхансер (сайленсер); усиливающий (ослабляющий) сайт; 5 - 3` нетранслируемая последовательность; 6 - иницирующий кодон; 7 - кодон-терминатор (стоп-кодон)

Особенностью клеток многоклеточных эукариот является **избирательность транскрипции генов (генетической активности сайтов ДНК): по месту** - разные типы клеток, **по времени** - разные периоды и фазы клеточного цикла или онтогенеза особи, **по интенсивности** - изменения функционального состояния клеток.

Биоинформативная область транскриптона полностью **транскибируется**. Вместе с тем, несмотря на то что названная область целиком транскибируется, в ней присутствуют участки ДНК, которые далее (по ходу внутриклеточного потока биоинформации) **транслируются** или **не транслируются**. В большинстве, но не во всех эукариотиче-

¹ В настоящее время термин «транскриптон» не употребляется широко и повсеместно. Тем не менее, он удобен, особенно в учебной литературе, своей конкретностью. В генах участки транскибируемой части, транслируемые (экспрессируемые) в аминокислотные последовательности белка - **экзоны**, перемежаются с участками, нетранслируемыми (неэкспрессируемыми) в аминокислотные последовательности белка - **интроны** (см. также п. 2.4.5.5). Количество экзонов и интронов в генах варьирует. Так, в геноме людей относительно небольших размеров ген β-глобина гемоглобина протяженностью 2000 п.н. имеет 3 экзона, а более крупный ген фактора VIII свертываемости крови (его мутации приводят к развитию одной из форм гемофилии) протяженностью 200 тыс. п.н. - 26 экзонов. В геноме человека на долю экзонов приходится до 1,5% ДНК, на долю интронов - 24%. Гены основных (щелочных) белков хроматина гистонов лишены интронов.

Инtron/экзонный формат структуры генов порождает самостоятельную проблему **процессинга пре-и(м)РНК транскрипта** путем вырезания участков, соответствующих интронам, и точного воссоединения «конец в конец» (**сплайсинг**) участков, соответствующих экзонам. Для того чтобы исключить ошибки, границы интронов и экзонов представлены так называемыми **конценсусными нуклеотидными последовательностями**. В пре-и(м)РНК транскрипте подавляющее большинство участков, соответствующих интронам, начинается с последовательности ГУ и заканчивается последовательностью АГ. Предположительно, с такими «пограничными» конценсусными последовательностями соединяются специальные **snRNA**, являющиеся составным элементом рибонуклеопротеиновых частиц - **сплайсосом**. О важной роли кон-ценсусных последовательностей для точного сплайсинга говорит следующий пример. В пре-и(м)РНК транскрипте β-полипептида гемоглобина на 5'-конце интрона «Г» может быть заменен на «А», что ведет к искажению биоинформации сначала в зрелой β-глобиновой и(м)РНК, а затем через «дефектный» или отсутствующий β-глобиновый полипептид и в гемоглобине. Результат состоит в развитии одной из форм наследственной

Источник KingMed.info

болезни человека β -талассемии, в клинический фенотип которой в качестве ведущего признака входит анемия.

Согласно распространенной точке зрения, интрон/экзонный формат организации генов эукариот возник в связи с необходимостью решать определенные задачи в рамках эволюционного процесса. В частности, благодаря такой организации и феномену альтернативного сплайсинга (см. здесь же, ниже) удастся повысить информационную емкость генома без увеличения количества ДНК. Предположительно, 35-59% пре-и(м) РНК транскриптов в клетках млекопитающих и человека подвержены

альтернативному сплайсингу с образованием, в среднем, более двух разных зрелых и(м)РНК. В качестве примера приведем и(м)РНК, возникающие вследствие альтернативного сплайсинга пре-и(м)РНК транскрипта гена α -тропомиозина, специфичные для разных типов клеток (рис. 2.35).

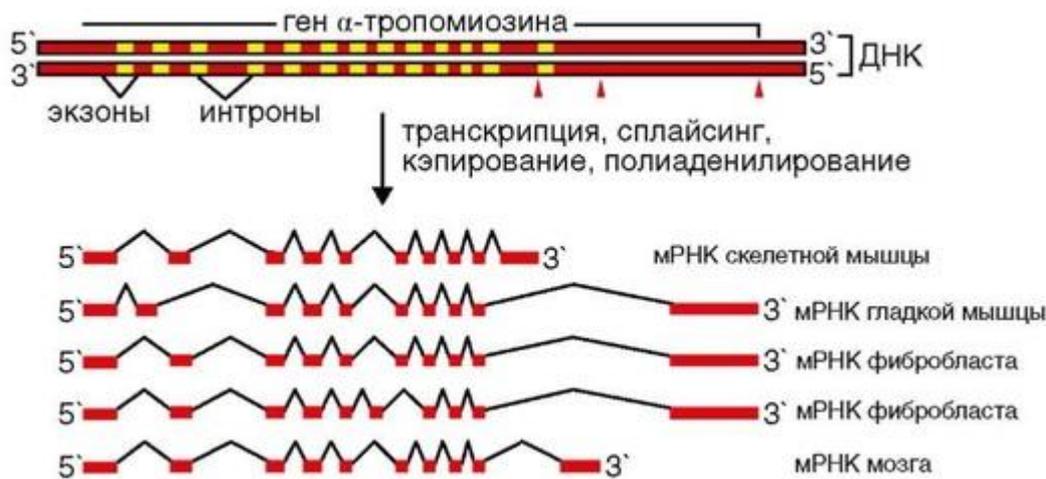


Рис. 2.35. Цитотипические и(м)РНК, образующиеся вследствие альтернативного сплайсинга пре-и(м)РНК-транскрипта гена α -тропомиозина

Наряду с названными выше, в состав транскриптона как функциональной единицы транскрипции включены так называемые не-транслируемые (хотя частично транскрибируемые) фрагменты ДНК, расположенные относительно биоинформативной части как с 5' (направление «вверх по течению», англ. *upstream*), так и с 3' (направление «вниз по течению», англ. *downstream*) ее конца, а также сайты, находящиеся на расстоянии сотен и тысяч пар нуклеотидов от биоинформативной части по обоим направлениям - *upstream* и *downstream*.

Важные в функциональном отношении нетранслируемые нуклеотидные последовательности транскриптона расположены на 5'-конце матричной цепи биспирали ДНК перед точкой начала транскрипции (направление *upstream*). Они составляют область промотора.

Функция **промотора** состоит в создании условий для инициации транскрипции, а также в регуляции некоторых параметров транскрипции, например, тканеспецифичности и скорости. Ключевой участник транскрипции и(м)РНК эукариот - РНК-полимераза II - не может самостоятельно взаимодействовать с биспиралью ДНК и, в частности, определить точку начала транскрипции. Предварительно с ДНК должны прореагировать белки - **общие транскрипционные факторы**. Это взаимодействие происходит в области промотора, имеющего в своем составе определенную нуклеотидную последовательность. В промоторах примерно 60% генов, транскрибируемых РНК-полимеразой II, - это «**ТАТА**»-последовательность, или **ТАТА-бокс**, располагающийся на расстоянии примерно 25 нуклеотидов от стартовой точки (инициирующего кодона). В остальных генах, но и в генах с последовательностью «ТАТА»

присутствует **последовательность «ЦААТ»**, либо выполняющая, либо способствующая выполнению функции последовательности «ТАТА». В рассматриваемой области транскриптона есть и **другие знаковые нуклеотидные последовательности**. Важнейшая функция промотора, как уже говорилось, состоит в правильном позиционировании фермента РНК-полимеразы относительно точки инициации (начала) транскрипции. Вместе с тем 5'-нетранслируемая область и, в частности, зона промотора служит структурой, на базе которой собирается сложный мультимакромолекулярный регуляторный комплекс, обуславливающий такие параметры транскрипции, как ее скорость (в частности, благодаря взаимодействию с энхансерами и сайленсерами), а также избирательность процесса считывания биоинформации, включая тканеспецифичность (рис. 2.36). Среди образуемых эукариотическими клетками белков, выполняющих, прежде всего, биокаталитическую функцию, различают **конститутивные** и **индуцибельные**. Первые синтезируются клетками на постоянной основе, вторые - периодически по мере возникновения необходимости в конкретной биохимической реакции (или совокупности реакций). Наиболее часто индуцибельные ферменты образуются при появлении в клетке соответствующего субстрата, в метаболизме которого участвует данный фермент. Очевидно, что в отсутствии субстрата синтез такого фермента функционально бессмысленен. Понятно также, почему роль индуктора выполняет обычно молекула субстрата. Индуцибельные синтезы являются правилом для прокариот и относительно редки у эукариот. С другой стороны, конститутивные белковые синтезы есть и у прокариот. Существует мнение, что для запуска транскрипции индуцибельных генов в эукариотических клетках существует самостоятельный механизм. Известно, что 5'-конец эукариотических и(м)РНК **«экспирован»** (англ. CAP - шапка, колпачок), т.е. «прикрыт» нетранслируемым участком в виде метилированного гуанилового нуклеотида. В случае взаимодействия с участком ДНК, ответственным за экпирование, соответствующего регуляторного белка (**специфический транскрипционный фактор**, см. комплекс цитозольных белков «теплового шока» с молекулой стероидного, например, полового гормона - п. 2.4.3.1) запускается транскрипция генов индуцибельных белков. Согласно еще одной точке зрения, в запуске транскрипции индуцибельных генов определенным своим фрагментом участвует область промотора. У высших многоклеточных животных функция индуктора выполняется нередко гормонами (стероидные половые - см. п. 2.4.3.1; адреналин - см. п. 2.4.2). В организме млекопитающих и человека индуцированные синтезы достаточно типичны для клеток печени, выполняющих, наряду с прочими, детоксицирующую функцию в отношении так называемых **ксенобиотиков**, например, инсектицидов, удобрений, некоторых лекарств. Соответствующие химические соединения, являясь индукторами, вызывают транскрипцию генов, контролирующую образование ферментов детоксикации, в частности, из семейства P450.

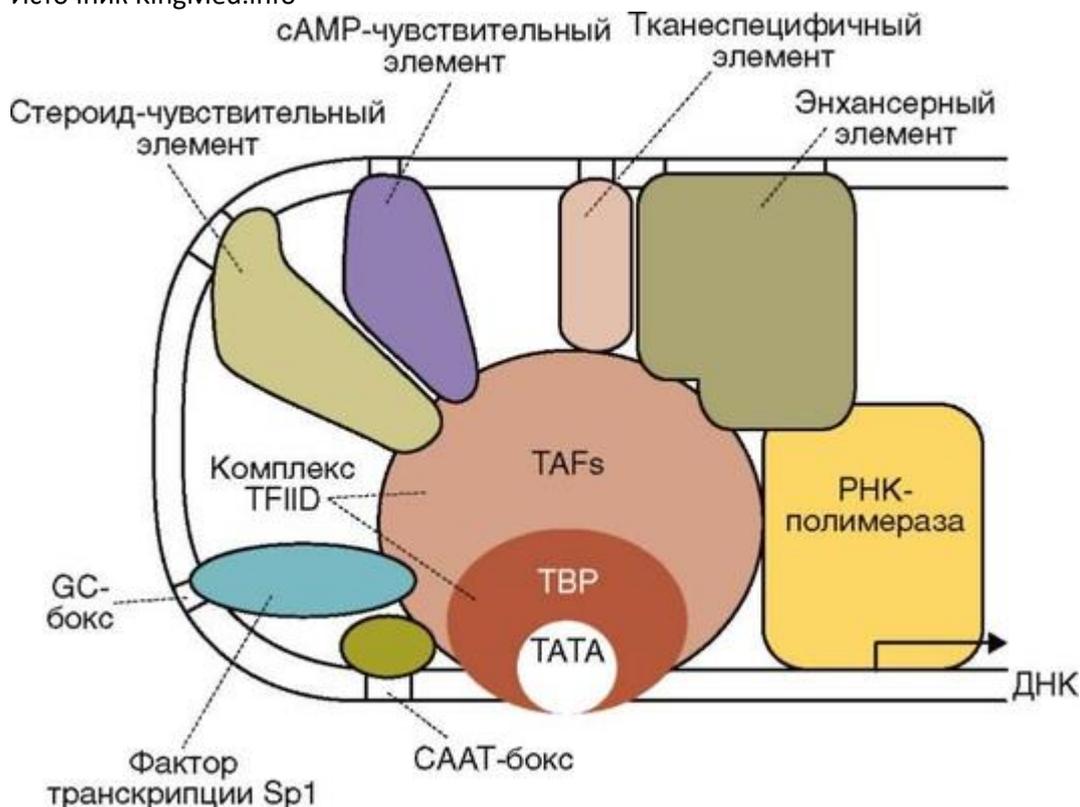


Рис. 2.36. Принципиальная структура инициаторно-регуляторного комплекса транскриптора эукариотической клетки (схема). TATA, ЦААТ, ГЦ - см. п. 2.4.5.5; TBP, TAFs, TFIIID - мультибелковые комплексы

Уточнение функционально-биоинформационной роли 5' (направление *upstream*, см. рис. 2.34) и 3' (направление *downstream*, см. рис. 2.34) нетранслируемых нуклеотидных последовательностей ДНК про-

должается. Некоторые сведения по указанному вопросу относительно 5'-участка изложены здесь же, выше, а относительно 3'-участка транскрипта приведены в п. 2.4.5.6-а и 2.4.5.7.

Таким образом, в структуре транскрипта как функционально-генетической единицы (единицы транскрипции) эукариотической клетки можно выделить располагающиеся компактно биоинформативную часть, характеризующуюся для большинства структурных генов интрон-экзонной организацией, а также 5' (направление *upstream*) и 3' (направление *downstream*) части. Нуклеотидные последовательности первой из названных частей участвуют в биоинформационном обеспечении фенотипа непосредственно, тогда как нуклеотидные последовательности двух других частей выполняют сервисные, конценсусные, регуляторные функции. Энхансерные и сайленсерные (см. п. 2.4.5.5-а) нуклеотидные последовательности выполняют регуляторную функцию. Они располагаются вне пределов транскрипта. По завершении процессинга пре-и(м)РНК транскрипта молекулы и(м)РНК некоторое время остаются в ядре в составе особых рибону-клеопропротеиновых частиц размером порядка 30S - **ядерные информо-сомы**. Кроме стабилизации структуры, соединение и(м)РНК с белками решает задачу ее перемещения из ядра в цитоплазму на ядерном отрезке «маршрута». Переход молекул и(м)РНК в цитоплазму происходит со сменой белков. Белковый компонент ядерных информосом остается в ядре, а присоединение к и(м)РНК цитоплазматических белков дает **цитоплазматические информосомы**. В составе последних и(м)РНК сохраняются в цитоплазме клетки в течение часов и суток.

2.4.5.5-а. Регуляция генетической активности {транскрипции, экспрессии генов}

Для прокариот типичен полицистронный, а для эукариот моноци-стронный формат транскрипции или экспрессии генов (см. п. 2.4.5.6-б), что заставляет предполагать разные механизмы регуляции генетической активности у представителей подимперий доядерных и ядерных организмов (см. п. 1.9). Известно также, что в геномах прокариот преобладают гены, контролирующие индуцибельные белковые синтезы, тогда как в геномах эукариот большинство генов связаны с конститутивными белковыми синтезами (см. п. 2.4.5.5). Механизмы регуляции транскрипции названных категорий генов различаются.

Есть негативный (отрицательный) и позитивный (положительный) варианты регуляции активности индуцибельных генов (в общем виде, регуляция транскрипции у прокариот). В случае **негативного** варианта связывание регуляторного белка с оператором блокирует работу оперона, а в случае **позитивного** варианта указанное связывание эту работу активирует. В качестве примера рассмотрим регуляцию активности генов (цистронов) **лактозного оперона** бактерии кишечной палочки (см. п. 2.4.5.6-б). Названный оперон (рис. 2.37) включает 3 цистрона или структурных гена *Z*, *Y* и *A* (экспрессируемые белки: β -галактозидаза, β -галактозидпермеаза и трансацетилаза), транскрибируемые на одну поли(3-х)цистронную и(м)РНК по сигналу с одного промотора. В зоне промотора находится регуляторная нуклеотидная последовательность, обозначаемая как **ген-оператор**. Пространственно вне связи с лактозным опероном находится еще одна регуляторная нуклеотидная последовательность, обозначаемая как **ген-регулятор**. Этот ген имеет собственный промотор и точку терминации транскрипции. Благодаря гену-регулятору в микробной клетке образуется **белок-репрессор**, который в отсутствие в среде лактозы, взаимодействуя с геном-оператором и блокируя, тем самым, продвижение к структурным генам РНК-полимеразы, выключает из функции лактозный оперон (негативный вариант регуляции). Выживание микроорганизмов в этом случае обеспечивается метаболизмом глюкозы. При появлении в среде **молочного сахара**, он, играя роль **индуктора** и взаимодействуя с белком-репрессором, препятствует соединению последнего с геном-оператором, снимая блокирующее действие. Оперон переходит в функционально активное состояние и структурные гены обмена лактозы транскрибируются. При существенном **обеднении среды глюкозой**, но при наличии таких сахаров, как **лактоза**, **галактоза** и **арабиноза** срабатывает позитивный вариант регуляции. Включается особый **белок-активатор** или **БАК** (англ. **CAP** - *catabolite activator protein*). Этот белок при наличии **цАМФ** взаимодействует с промоторами оперонов, ответственных за утилизацию в качестве альтернативных глюкозе источников энергии и углерода перечисленных выше сахаров, и, увеличивая сродство к РНК-полимеразе, активирует транскрипцию.

В геномах эукариот к категории генов, контролирующих индуци-бельные белковые синтезы, относятся, в частности, запускаемые стероидными половыми гормонами. Регуляторно-активирующее действие в данном случае состоит в изменении функциональных характеристик внутриклеточных транскрипционных факторов, находящихся в отсутствие гормона в репрессированном состоянии и лишенных, таким образом, возможности соединиться со специфическими сайтами ДНК и открыть их для транскрипции (см. п. 2.4.3.1 и рис. 2.9). В приведенном примере речь идет о позитивном варианте регуляции генетической активности. У эукариот описан также негативный вариант контроля транскрипции индуцибельных генов (см. здесь же, выше).

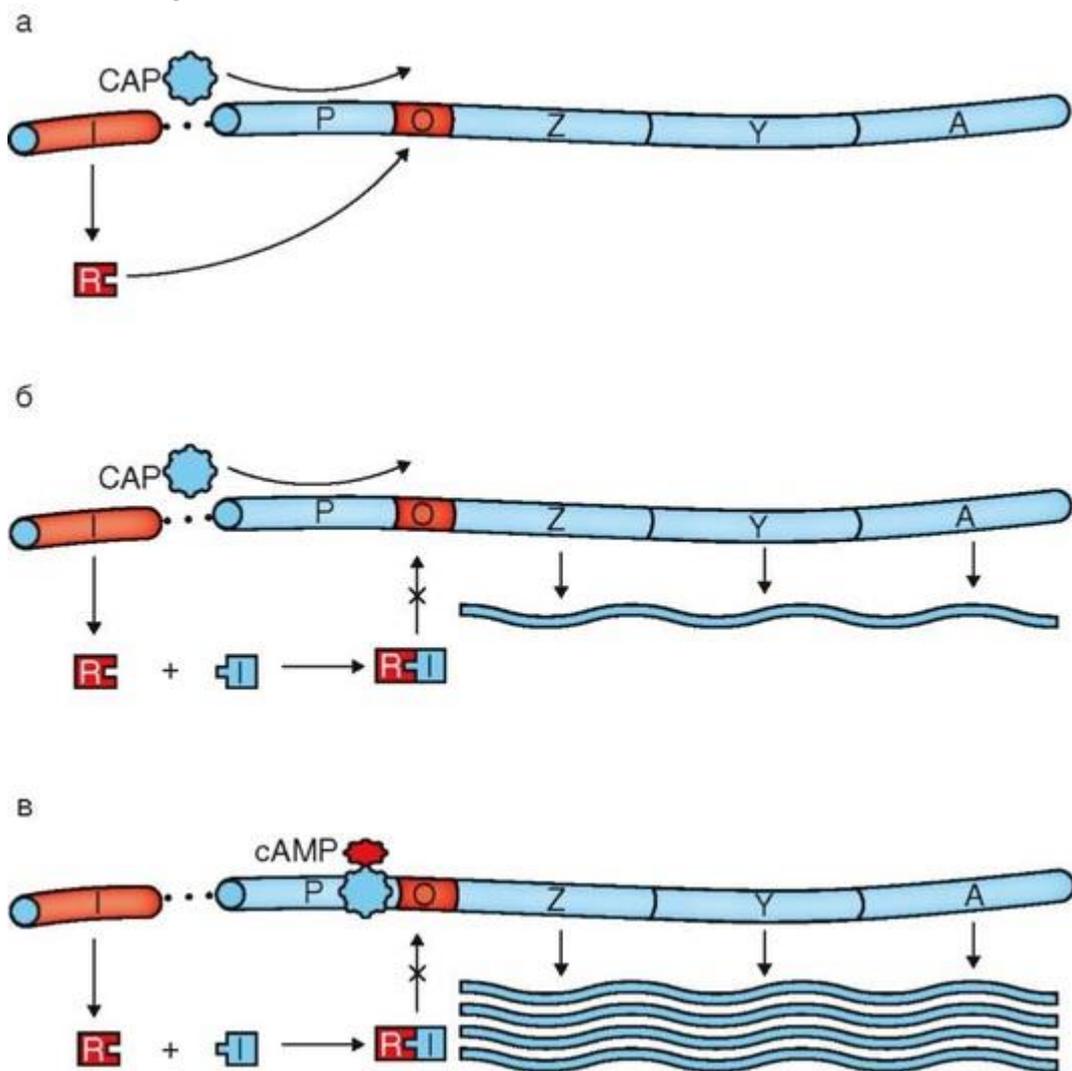


Рис. 2.37. Негативный и позитивный варианты регуляции транскрипции лактозного оперона кишечной палочки: а - в среде есть глюкоза, нет лактозы, лактозный оперон не транскрибируется; б - в среде снижен уровень глюкозы, есть лактоза, уровень цАмФ низкий; в - в среде нет глюкозы, в среде есть лактоза, галактоза и/или арабиноза, уровень цАмФ высокий; CAP - белок-активатор, P - промотор, R - репрессор, I - индуктор (лактоза)

Регуляция транскрипции большинства генов эукариот, у которых преобладают конститутивные белковые синтезы, отличается разно-

образием механизмов и конкретных участников. Свою специфику в проблему регуляции генетической активности вносит многоуровневая структура аппарата наследственности эукариот (см. п. 4.3). В первом приближении механизмы регуляции генетических функций эукариотического генома делят на неспецифические и специфические.

К **неспецифическим механизмам** относят, прежде всего, те, в которых ведущая роль принадлежит изменениям плотности упаковки материала хромосом, феномену «компактизации-декомпактизации» этого материала, в частности, его гетерохроматизации. В качестве примера приводят хорошо известный еще классической (домолекулярной) генетике факт подавления генетических функций сайтов, находящихся рядом с гетерохроматизированными участками хромосом - «**эффект положения**» (см. п. 2.4.3.4-г - ингибирующий эффект теломерной ДНК, ослабевающий или снимаемый по мере укорочения теломер). Существование в эукариотическом геноме ДНК обязательно в виде **нуклеогистонового комплекса**, а

Источник KingMed.info

также **нуклеосомный принцип структурной организации этого комплекса** может также рассматриваться, правда, с некоторыми оговорками (см. здесь же, ниже), как один из неспецифических механизмов регуляции генетической функции ДНК.

Механизмы специфической регуляции генетической активности на уровне ДНК связывают с наличием в транскрипционе (см. п. 2.4.5.5) **5'-нетранслируемой области**, особенностями структуры промоторов, наличием таких регуляторных сайтов, как **энхансеры** (усилители транскрипции, англ. *enhance* - увеличивать, усиливать) и **сайленсеры** (ослабители транскрипции, англ. *silense* - заглушать).

Значительное место в регуляции транскрипции у эукариот молекулярная биология отводит регуляторным белкам с общим названием **транскрипционные факторы**. Принципиальная черта последних заключается в их способности узнавать и связываться с определенными сайтами ДНК. Выделяют группу **общих транскрипционных факторов** и группу **специфических транскрипционных факторов**. Первые, как это вытекает из исследований регуляции транскрипции гена альбумина (*ALB*) в клетках печени млекопитающих, являются обязательными участниками мультигетеробелкового комплекса, образуемого в связи с «ТАТА»-последовательностью промотора, необходимого для функционирования РНК-полимеразы II и, следовательно, запуска транскрипции. Другие транскрипционные факторы из этой же группы, образуя комплекс с последовательностью «ЦААТ» промотора, влияют на эффективность транскрипции. В области промотора названного гена есть знаковые сервисные и конценсусные нуклеотидные последовательности (*PE, DEI, DEII* и *DEIII*), связывающие специфические транскрипционные факторы. Так, последовательность *PE*, у мыши длиной 13 п.н., взаимодействует с тканеспецифическим белком печени *HNF1*. Функции специфических транскрипционных факторов состоят в активации промоторов различных генов.

Молекулы разных транскрипционных факторов различаются структурными особенностями (мотивами). На основании этих особенностей их группируют в семейства: белки «спираль-поворот-спираль», гомео-доменные белки, белки типа «лейциновой застежки-молнии» и «цинковые пальцы».

Важная роль в осуществлении транскрипционными факторами их функций принадлежит ядерному матриксу (см. п. 2.4.3.2). Есть данные о том, что транскрипционные факторы во взаимодействии с ядерным матриксом обеспечивают должное пространственное расположение промоторов генов и энхансерных участков.

В связи с проблемой регуляции транскрипции нельзя не назвать такой механизм, как **химическая модификация ДНК**, в частности, ее **метилирование** (обычно по 5-му углероду цитозинов). Присоединение метильных групп, с одной стороны, препятствует взаимодействию транскрипционных факторов с ДНК, а с другой - метилированные участки ДНК приобретают способность взаимодействовать с белками **транскрипционными репрессорами**. Метилирование цитозинов ДНК всегда ведет к подавлению генетической активности. К примеру, почти все гены инактивированной хромосомы X (см. п. 2.4.3.4-в - тельце полового хроматина) в клетках женщин метилированы.

Многие стороны процесса регуляции генетической активности у эукариот далеки от понимания, что объективно создает трудности в описании конкретных механизмов.

Регуляция экспрессии генов осуществляется также на трансляционном и пост(после)трансляционном уровнях, в частности, путем изменения «времени жизни» зрелых и(м)РНК (см. п. 2.4.5.6-а).

2.4.5.6. Внутриклеточное движение биологической (генетической) информации. Трансляция и посттрансляционные процессы. Рибосомный цикл биосинтеза белка

Биосинтез белков в клетках эукариот осуществляется в цитоплазме на рибосомах (или, что более точно, на ассоциациях рибосом с и(м) РНК - полисомах, полирибосомах). Важнейшие задачи, решаемые рибосомой, состоят в создании условий, во-первых, для требуемого пространственного взаиморасположения участников образования белковых молекул и, во-вторых, для осуществления каталитических и регуляторных актов, необходимых для образования аминокислотных последовательностей, соответствующих последовательностям кодо-нов и(м)РНК. Процесс построения полипептида (**трансляция**), раз начавшись, идет, не прерываясь, вплоть до своего завершения. При этом субъединицы рибосом, тРНК, некоторые белки (например, выполняющие сервисные функции) вовлекаются в процесс неоднократно. Это дает основания говорить о «**рибосомном цикле биосинтеза белка**».

Главными участниками, объединяемыми пространственно на **рибосоме**, являются **и(м)РНК**, тРНК с энергетически активированной аминокислотой в виде **аминоацил-тРНК** или аа-тРНК («заряженная» тРНК), тРНК, несущая строящийся пептид (**пептидил-тРНК**). Нелишне подчеркнуть, что необходимая пространственная ориентация участников является непременным условием функциональной состоятельности трансляции. Действительно, если генетический код является неперекрывающимся, то начало считывания информации с и(м)РНК должно приходиться на строго определенный кодон. К примеру, кодирующая (транслируемая) область и(м)РНК начинается с последовательности -АУГ-УУУ-ААА-ЦЦЦ-ЦУГ- и соответствует пептиду: -Мет-Фен-Лиз-Про-Лей-. Допустим, что произошло выпадение первого А. Тогда нуклеотидная последовательность, выраженная в кодонах, примет вид -(А) УГУ-УУА-ААЦ-ЦЦЦ-УГ ?, что соответствует пептиду: -Цис-Лей-Асп-Про- Таким образом, отклонение хотя бы на один нуклеотид вызывает сдвиг «рамки считывания», что, неизбежно приводя к изменению последовательности аминокислот, дает функционально «дефектные» полипептиды.

Приращение образуемого пептида происходит путем присоединения очередной аминокислоты, для чего необходимо взаимодействие аа-тРНК и пептидил-тРНК. Два названных участника должны занимать друг относительно друга строго определенные пространственно близкие позиции, что и имеет место на самом деле.

Решение рибосомой необходимых задач обеспечивается наличием у нее функциональных центров:

- связывания и(м)РНК или **М-центр**;
- связывания пептидил-тРНК или **П-центр**;
- связывания аа-тРНК или **А-центр**;
- пептидилтрансферазный или **ПТФ-центр**, катализирующий перенос аминокислоты с аа-тРНК на пептидил-тРНК с образованием пептидной связи, а также участвующий в транслокации пептидил-тРНК из А-центра в П-центр.

М-центр расположен на малой субъединице, ПТФ-центр - на большой, аП-и А-центры имеют свои участки на обеих субъединицах (рис. 2.38). Из приводимой схемы видно, что центры находятся на контактирующих поверхностях субъединиц. В действующей рибосоме между названными поверхностями существует ряд полостей и углублений, в которых размещаются аа-тРНК, пептидил-тРНК, а также выделяются две бороздки. Одна из них удерживает растущую пептидную цепь, вторая - и(м)РНК.

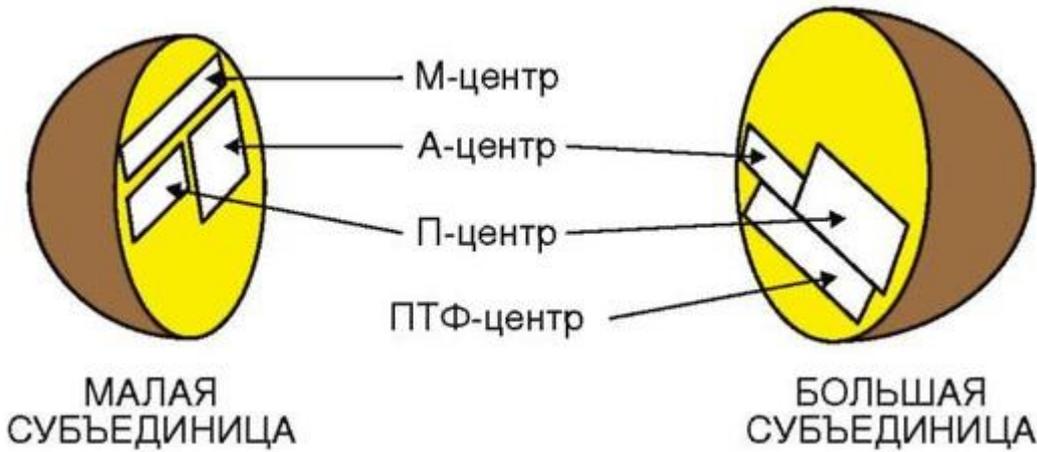


Рис. 2.38. Расположение функциональных центров рибосомы на субъединицах (схема)

Будучи матричным процессом, трансляция включает все необходимые фазы: инициации, элонгации и терминации. О важности **фазы инициации** уже говорилось. Первым шагом является присоединение и(м)РНК ее нетранслируемой 5' нуклеотидной последовательностью (см. рис. 2.34) к малой субъединице рРНК еще до сборки органеллы (рис. 2.39). При этом размещение иницирующего кодона после сборки рибосомы будет точно отвечать уровню участка П-центра на большой субъединице. У эукариот роль **иницирующего** принадлежит

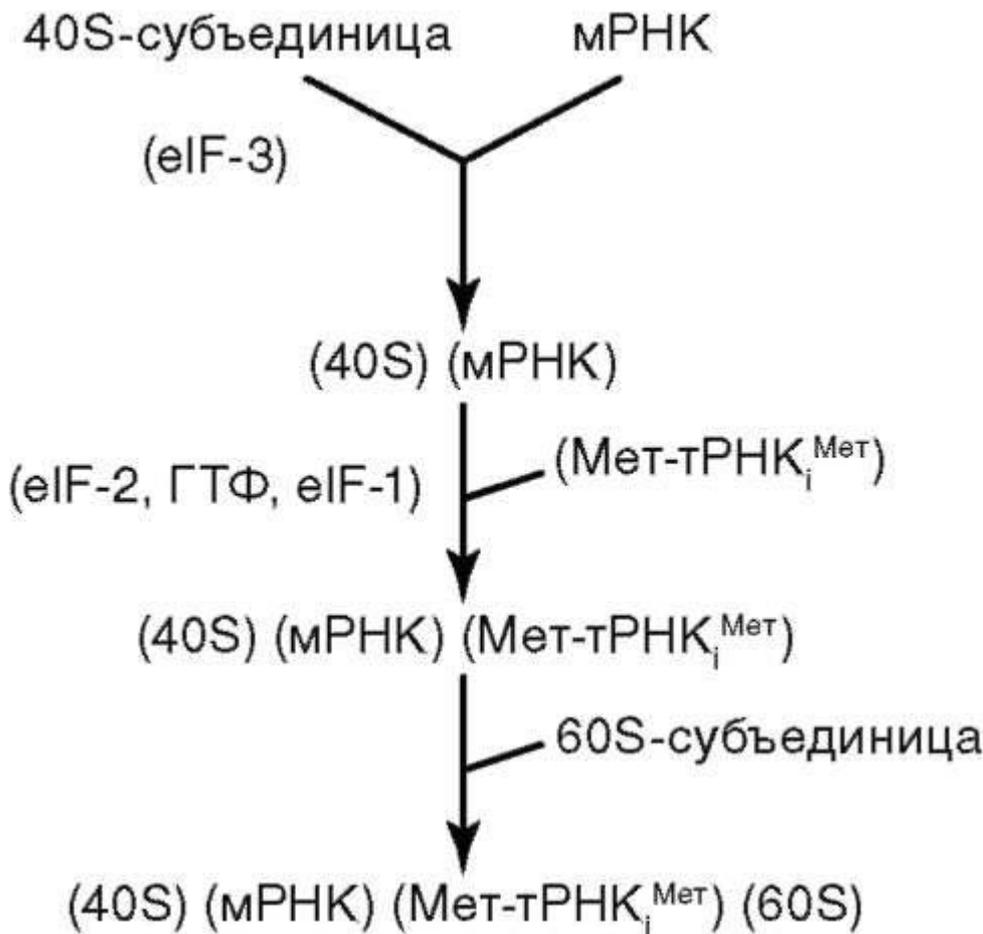


Рис. 2.39. Инициация трансляции: последовательность соединения главных участников

кодону аминокислоты метионина - АУГ. Это, однако, не означает, что все образуемые клеткой белки начинаются с этой аминокислоты. Реально полипептид «открывается» аминокислотой,

Источник KingMed.info

кодируемой следующим триплетом. Метионин, конечно, встречается и во внутренних участках пептидов. Быть кодону метионина иницирующим или шифрующим положение соответствующей аминокислоты в полипептиде решается на уровне метиониновой тРНК. Таких тРНК в клетках две. Одна из них, маркируемая для удобства индексом «*i*», выбирает иницирующий кодон и(м)РНК. Имеет принципиальное значение, что в эукариотической клетке метионин образует два функционально разных комплекса тРНК: один используется для инициации - **Мет-тРНК_i^{Мет}**, другой - для элонгации - **Мет-тРНК_e^{Мет}**. Инициация трансляции требует участия белковых факторов ***eIF-1*, *eIF-2* и *eIF-3* (eucariotic Initiation Factors)**: *eIF-3* способствует образованию связи и(м)РНК с малой субъединицей и препятствует преждевременному присоединению большой субъединицы, *eIF-2* участвует в связывании иницирующей аа-тРНК. В состав иницирующего комплекса входит также гуанозинтрифосфат (ГТФ), который, гидролизуясь до ГДФ и *Pi* (пирофосфат, неорганический фосфат), обеспечивает энергией, в частности, установку Мет-тРНК_i^{Мет} в П-центре и присоединение большой субъединицы. Таким образом, в дебюте трансляции иницирующая метиониновая аа-тРНК играет роль пептидил-тРНК. Из названных участников акта инициации окончательно не выяснена функция *eIF-1*. Возможно, этот фактор способствует объединению Мет-тРНК_i^{Мет}, *eIF-2* и ГТФ. Представление о расположении основных участников инициации белкового синтеза дает рис. 2.40.

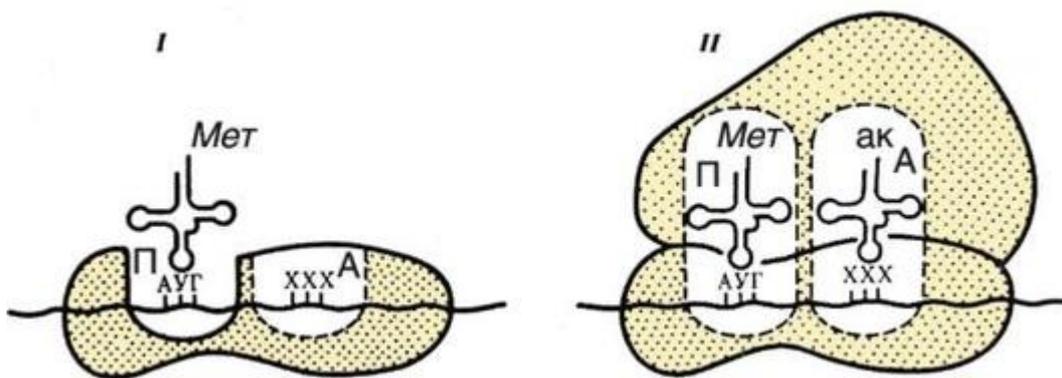


Рис. 2.40. Инициация трансляции: взаиморасположение главных участников

У прокариот (а также в митохондриях) к метионину, связывающемуся с инициаторной тРНК, присоединяется формильная группа с образованием **формилметионина**, благодаря чему соответствующий комплекс обозначается как ***fMet*-тРНК_i^{fMet}**.

Фаза элонгации представляет собой циклический процесс, в ходе которого с каждым очередным «шагом» строящийся пептид удлиняется на один аминокислотный остаток. Суть происходящего сводится к тому, что соответствующая аа-тРНК узнает находящийся в данный момент в А-центре кодон и(м)РНК, комплементарный ее антикодону, и занимает требуемое место на рибосоме (рис. 2.41). Благодаря закономерным пространственным отношениям акцепторные зоны пептидил-тРНК (в П-центре) и аа-тРНК (в А-центре) вместе с находящимися в связи с ними аминокислотами оказываются в каталитическом ПТФ-центре, где между аминокислотами образуется пептидная связь. Присоединение к пептиду новой аминокислоты происходит без энергозатрат. Строящийся пептид, увеличивший свою длину на один аминокислотный остаток, переносится из П-центра в А-центр - **пептидилтрансферазная реакция**. Таким образом, этот пептид оказывается присоединенным к аа-тРНК А-центра, которая теперь с полным основанием может рассматриваться как новая пептидил-тРНК. В элонгации пептида участвует свой набор белковых факторов - ***EF-1u* и *EF-1s*** (англ., ***Elongation Factors***). Первый из них при участии *EF-1s* организует сборку комплекса

Источник KingMed.info

аминокислота-тРНК (аа-тРНК) и ГТФ и вместе с комплексом достигает рибосомы. Обратите внимание, что упомянутые факторы элонгации выполняют функции, сходные с теми, которые характеризуют факторы *eIF-2* и *eIF-1* фазы инициации. Если антикодон тРНК комплементарен кодону и(м)РНК в А-центре, то аа-тРНК занимает место в названном центре, ГТФ гидролизуется до *Pi* и ГДФ с выделением энергии и вместе с *EF-1u* покидает рибосому.

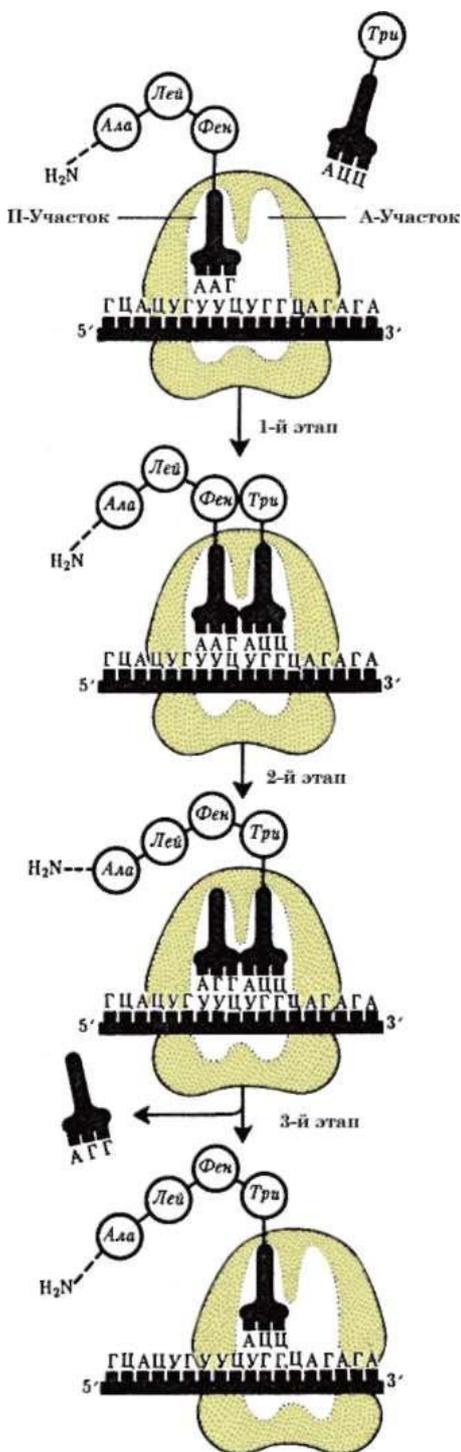


Рис. 2.41. Фаза элонгации трансляции: основные этапы. 1-й этап - аминоксил-тРНК присоединяется к кодону в А-центре; 2-й этап - между аминокислотами вА-и П-центрах (пептидил-тРНК) образуется пептидная связь; тРНК П-центра освобождается от аминокислоты (пептида) и покидает рибосому; 3-й этап - рибосома перемещается по и(м)-РНК на один кодон так, что тРНК, нагруженная пептидной цепочкой, переходит из А-центра в П-центр; свободный А-центр может быть занят соответствующей аа-тРНК

Хотя местом прикрепления к рибосоме пептидил-тРНК на этом этапе является А-центр, собственно пептидильный фрагмент, предположительно, располагается в зоне П-центра, что создает стерическое напряжение. Следующим событием является происходящее также с участием каталитического ПТФ-центра и, возможно, с учетом отмеченного напряжения перемещение (трансфер) новой пептидил-тРНК из А-в П-центр. Не исключено, что перемещающийся в область П-центра комплекс пептидил-тРНК, благодаря своей связи через тРНК с «реализованным» кодоном тянет последний также в зону П-центра. Реально это воспринимается как перемещение рибосомы относительно и(м) РНК в направлении ее 3'-конца на один «шаг» (эквивалентен одному кодону или триплету) с экспозицией в зоне А-центра очередного кодона, который будет опознан антикодоном следующей aa-тРНК. тРНК, ранее связанная с П-центром, освобождается и через Е-участок (англ., *exite*) этого центра возвращается в цитоплазму. Здесь она может быть использована в новых aa-тРНК. В возвращении пептидил-тРНК в область П-центра участвуют с каталитической функцией белковый фактор элонгации **EF-2 - транслоказа** и ГТФ как донор энергии.

Описанный процесс продолжается до момента, когда в А-центре рибосомы окажется терминирующий кодон, для которого не существует тРНК - УАА, УАГ или УГА, что соответствует наступлению **фазы тер-минации (завершения)** трансляции (рис. 2.42). Указанные кодоны узнаются белковыми факторами освобождения или терминации **eRF** (**eucariotic Releasing Factors**). Их два: один служит для соединения с триплетами УАА и УАГ, второй - с триплетами УАА и УГА. Вследствие соединения фактора терминации со «своим» кодоном в зоне ПТФ-центра возникает **гидролазная активность**, разрушающая связь между тРНК и пептидом. Полипептид, тРНК и и(м)-РНК покидают рибосому, субъединицы которой, диссоциируя, поступают в цитоплазму и могут быть использованы в синтезе белка повторно.

Процесс трансляции у эукариот носит характер «конвейера»: на одной и(м)РНК одновременно строится несколько идентичных пептидов. Это означает, что на нетранслируемом 5'-участке одной и той же информационной РНК последовательно оформляются инициаторные комплексы, собираются функционирующие рибосомы и синтезируются полипептиды. Рибосомы, связанные с одной и(м)РНК, образуют **полисому (полирибосому)**. Смысл полисомного формата белкового синтеза понятен и заключается в повышении производительности процесса.

Представление о некоторых параметрах полисомного «конвейера» дают данные по трансляции глобиновых и(м)РНК в ретикулоцитах (клетки - непосредственные предшественницы зрелых эритроцитов млекопитающих, в том числе человека). Для названного объекта среднее расстояние между рибосомами в полисоме равно примерно 80 нуклеотидам. Так как длина кодирующей (транслируемой) части указанных РНК составляет порядка 430 нуклеотидов, нетрудно подсчитать, что соответствующая полисома содержит 5-6 рибосом. У эукариот рибосомы перемещаются относительно и(м)РНК со средней скоростью до 15 нуклеотидов в секунду. В таком случае скорость включения аминокислот в строящийся пептид составляет примерно до 5 аминокислотных остатков в секунду. При скорости элонгации в 1-2 аминокислотных остатка в секунду продолжительность трансляции глобиновой и(м)РНК оценивается в 2 мин.

Для осуществления специфической функции образовавшийся полипептид, если он относится к белкам «домашнего использования», должен быть **адресно доставлен** в соответствующую клеточную структуру (лизосома, митохондрия, пероксисома, ядро) или, если этого требует выполняемая им функция (например, трипсиноген, образуемый эк-зокринными клетками поджелудочной железы), **выведен из клетки**. Примеры механизмов, с помощью которых решаются обозначенные выше задачи, приведены в пунктах 2.4.4.4-а, 2.4.4.4-б, 2.4.4.4-д.

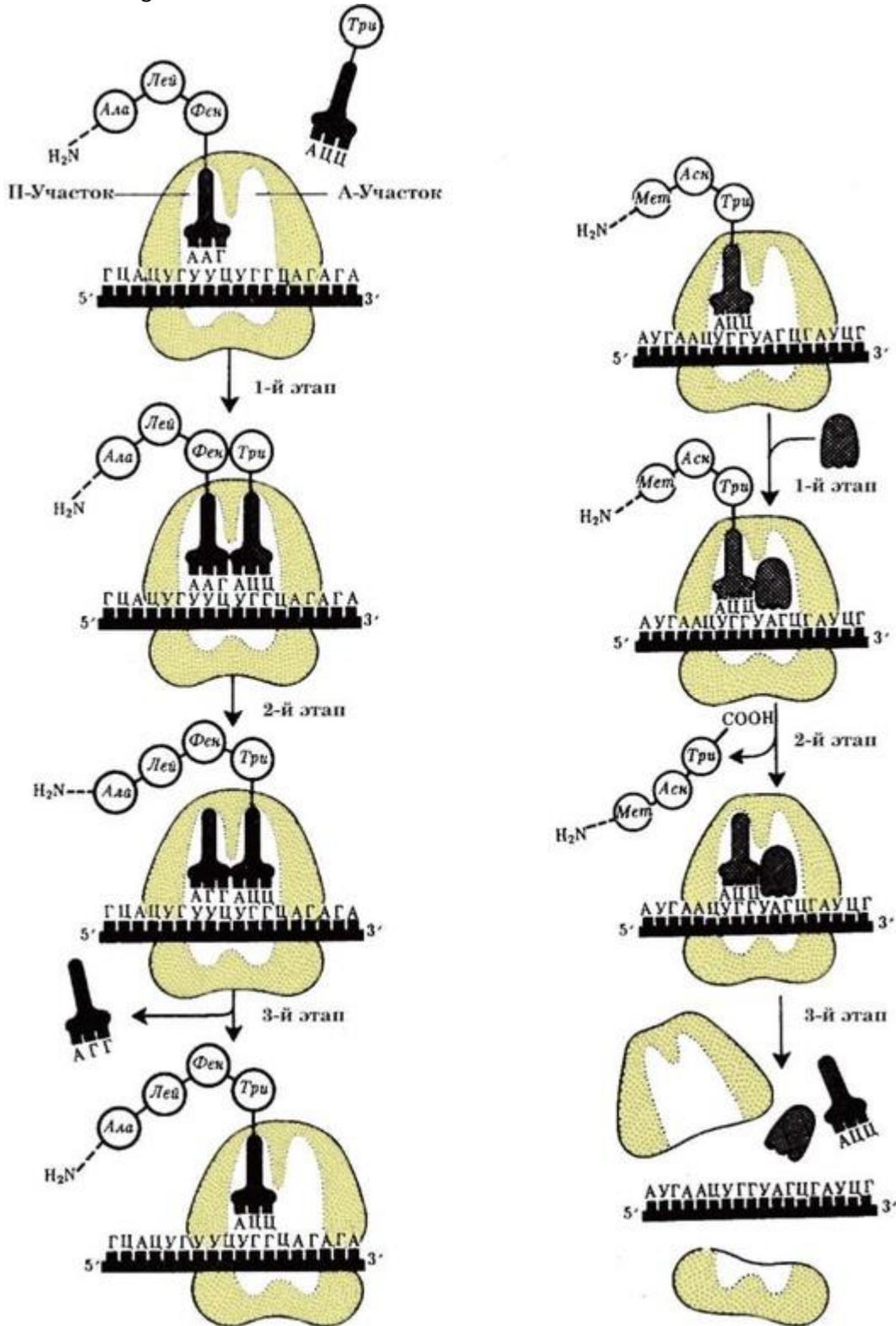


Рис. 2.42. Завершение (терминация) образования полипептида на рибосоме. 1-й этап - присоединение фактора терминации к нонсенс(стоп)-кодону; 2-й этап - высвобождение завершеного синтезом пептида; 3-й этап - диссоциация рибосомы на субъединицы

Процесс трансляции в **митохондриях** во многом сходен с таковым прокариотической клетки.

2.4.5.6-а. Механизмы регуляции продолжительности существования в цитоплазме зрелых и(м)РНК: цитофункциональный аспект

Источник KingMed.info

В клеточной биологии проблема регуляции количества элементарного конечного продукта внутриклеточного потока биологической (генетической) информации - полипептида (простого белка) - воспринимается как важная. Тем более она важна для медицины, поскольку количественная дисрегуляция белковых синтезов может стать причиной развития патологических состояний. Известны примеры генетических патологий, фенотипически проявляющихся в чрезмерном накоплении в клетках веществ из-за того, что при нормальных параметрах их образования вследствие «дефектности», например, лизосомальных ферментов они не разрушаются (сфинголипиды при болезни Тея-Сакса, гликоген при болезни Помпе - см. п. 2.4.4.4-в). Нет оснований исключать возможность развития клеточной патологии подобного рода в результате функционально неадекватной интенсификации или неоправданно пролонгированного во времени синтеза белков.

Хотя известны генетические механизмы количественной регуляции РНК-овых и белковых синтезов, реализуемые на уровне генетического аппарата клеток (кластерная организация генов рРНК и тРНК, гисто-новых белков - см. п. 2.4.3.4-д; феномен эу- и гетерохроматизации - см. п. 2.4.3.4-в; политенные хромосомы клеток слюнных желез некоторых насекомых, хромосомы типа «ламповых щеток» в овогенезе некоторых позвоночных и амплификация генов рРНК в овогенезе амфибий, полиплоидизация соматических клеток млекопитающих, см. п. 2.4.3.4-а), главные события количественной регуляции белковых синтезов молекулярная и клеточная биология относят к процессу трансляции и связывают прежде всего со стабильностью и, таким образом, «временем жизни» и(м)РНК.

Описаны разные механизмы регуляции стабильности и, следовательно, длительности существования в цитоплазме и участия в белковых синтезах и(м)РНК. Структура тубулиновой и(м)РНК дестабилизируется, например, при наличии в цитоплазме свободных мономеров тубули-на (конкретный механизм неизвестен). В нетранслируемой 3'-области и(м)РНК, ответственной за образование рецепторного белка транс-феррина, участвующего в транспорте в клетки железа, есть группа из 5 «шпилечных» петель - железочувствительный элемент **IRE** (англ. *iron-responsive element*). При отсутствии железа к **IRE** присоединяется белок, что стабилизирует трансферриновую и(м)РНК: время образования рецептора и, следовательно, его количество в клетке возрастают, обеспечивая поступление железа в требуемом объеме. Правилom для многих короткоживущих и(м)РНК является наличие в 3'-нетранслируемых участках «нуклеотидных последовательностей нестабильности» - богатых аденином и урацилом элементов - **AURE** (англ. *adenine/uracil-rich elements*), с которыми, возможно, соединяются определенные регуляторные белки. Почти все (исключение составляют матричные РНК гистонов) зрелые и(м)РНК имеют на 3'-конце фрагменты из меньшего или большего количества адениловых нуклеотидов - так называемый **полиадениловый (поли-А) «хвост»**. Соединение с указанным «хвостом» определенного белка стабилизирует и(м)РНК, а деаденилирование нередко происходит перед ее распадом. Нуклеотидные последовательности ДНК, ответственные за наличие в пре-и(м)РНК транскриптах, а затем в зрелых и(м)РНК полиадениловых «хвостов», **IRE**, **AURE** и т.п. находятся в 3'-нетранслируемом районе транскриптона (направление *downstream*, см. п. 2.4.5.5).

2.4.5.6-6. Биосинтез белков в прокариотической клетке

Белковый синтез в клетках прокариот организован в принципе так же, как у эукариот. Однако есть ряд отличий. Так, речь идет о меньших размерах рибосомы (70S) и строящих ее субъединиц (50S и 30S). Основу большой субъединицы прокариотической рибосомы составляют молекулы рРНК двух (отсутствует 5S рРНК), а не трех разных типов. Количество рибосомальных белков

Источник KingMed.info

меньше - 34 в большой и 21 в малой субъединице. Некоторые различия существуют в наборе белковых факторов инициации, элонгации и терминации трансляции.

Определенные особенности биосинтеза белков у прокариот заслуживают специального внимания. Для прокариот характерен **полици-стронный формат**, в соответствии с которым образование конкретных пептидов жестко сопряжено во времени, т.е. происходит одним блоком (оперон) с группы генов (**цистронов**), контролирующих образова-

ние белков, ответственных за необходимые стадии (стороны) одного функционально-метаболического пути или цикла. Так, **лактозный оперон (lac-оперон)** микроорганизма кишечной палочки (*E. coli*), дающий бактерии возможность при отсутствии глюкозы утилизировать лактозу (молочный сахар), имеет три цистрона (гена). Их одновременные активация и экспрессия (транскрипция и трансляция) необходимы в силу того, что один из цистронов контролирует образование ключевого фермента β -галактозидазы, катализирующего гидролиз β -галактозида лактозы до глюкозы и галактозы, второй - образование транспортного белка β -галактозидпермеазы, обеспечивающего проникновение лактозы в микробную клетку, третий - синтез белка галактозидтрансацетилазы, защищающего бактерию от неметаболизирующихся, потенциально токсичных β -галактозидов. Каждая из образующихся вследствие транскрипции блока взаимосвязанных цистронов (генов) и(м)РНК имеет собственный иницирующий транскрипцию участок и кодон-терминатор. В качестве иницирующего участка выступает находящаяся на 5'-конце нуклеотидная последовательность Шайна-Дальгарно, связывающаяся с 16S-рРНК малой субъединицы. Эта последовательность отсутствует у эукариот, у которых соответствующую роль выполняет, по-видимому, «кэпированный» метилированным гуаниновым нуклеотидом участок нетранслируемой 5'-последовательности и(м)РНК. После присоединения этим участком известных белков осуществляется связь и(м)РНК и малой (40S) субъединицы бактериальной рибосомы. Одновременно транскрибируемые и далее транслируемые в белки цистроны составляют единый функционально-генетический блок - **оперон** с единым механизмом регуляции, поскольку выпадение синтеза хотя бы одного белка делает всю ситуацию функционально бессмысленной. Полици-стронный формат генетического обеспечения клеточных функций характеризует синтез так называемых индуцируемых (индуцибельных) белков, прежде всего ферментов, непременным условием образования которых клеткой должно быть наличие соответствующего субстрата (в рассмотренном примере молочный сахар).

Для эукариот типичен **моноцистронный формат** организации белкового синтеза с соответствующими регуляторными механизмами, хотя индуцибельные гены у них также имеются.

В инициации трансляции у прокариот участвует химически модифицированный метионин - **формилметионин**. Функциональный резон этого события неясен. У прокариот имеет место **сопряжение транскрипции и трансляции**. В частности, трансляция у них осуществляется на фрагментах и(м)РНК без утраты их связи с ДНК, т.е. при идущей транскрипции. Белообразующий комплекс прокариот, таким образом, представлен кольцевой молекулой **ДНК**, перемещающейся по ней **РНК-полимеразой**, фрагментом синтезируемой **и(м)РНК**, продвигающимися по этому фрагменту **рибосомами**, строящимся **пептидом**.

2.4.5.7. Надежность внутриклеточного потока биологической (генетической) информации. «Контроль качества» и(м)РНК и белков

Источник KingMed.info

В пункте 2.4.5.3-а обсуждалась проблема сохранности и минимизации искажений содержания биологической (генетической) информации на уровне ДНК, а также в связи с передачей этой информации в ряду клеточных поколений (репликация ДНК). Обращает внимание наличие целого комплекса соответствующих факторов и механизмов. Вследствие их совокупного действия по завершении процесса самоудвоения (самокопирования) ДНК в геноме остается 1 ошибка на 10^9 - 10^{10} спариваний нуклеотидов. Можно предположить, что существуют механизмы, снижающие возможность появления и/или сохранения функционально «дефектных» биоинформационных полимеров на таких этапах внутриклеточного потока генетической информации, как транскрипция, процессинг пре-РНК транскриптов, трансляция, пост(после)трансляционные события.

Общий итог известен: один «дефектный» полипептид приходится на 10^4 образуемых клеткой. Ведущее место в стратегии гарантии требуемого качества на названных этапах внутриклеточного потока биоинформации занимают, видимо, не «профилактика» искажений или, если уж они возникают, их устранение с восстановлением «правильного» текста (восстановление содержания, смысла), а детекция и селективное (избирательное) разрушение функционально неполноценных продуктов. Тем не менее в эволюции эукариотической клетки возникли механизмы защиты нуклеотидных последовательностей и(м)РНК от разного рода агрессивных воздействий, в частности ферментных (нуклеазы). Соответствующие функции выполняют «кэп» на 5'-конце и предположительно поли-А участок на 3'-конце молекулы. Свой вклад вносят, по-видимому, белки, комплексирующиеся с и(м)РНК в ядре (**ядерные информосомы**) и цитоплазме (**цитоплазматические информосомы**).

С другой стороны, известны механизмы ликвидации и(м)РНК путем их деградации. Понятен «биоинформационный резон» раз-

рушения и(м)РНК в случае **«неправильного» размещения в них кодонов-терминаторов** (англ. *nonsense-mediated RNA decay* или **NMD**; синоним - **mRNA surveillance**). Ориентиром для ферментов, осуществляющих контроль функционального соответствия информационных (матричных) РНК, является присутствие по ходу транскрипта ниже места расположения кодона-терминатора (направление *downstream*) нетранслируемой нуклеотидной последовательности. В «контроле качества» и(м)РНК принимают участие ядерные структуры - **экзосомы** (англ. *exosomes*; аналог деградом (*degradosomes*) бактериальных клеток). Они, по-видимому, осуществляют мониторинг степени аденилирования транскрипта непосредственно перед тем, как и(м)РНК покинет ядро. И(м)РНК, «несостоятельные» по поли-А-«хвосту», разрушаются.

Выше указывалось на роль тРНК в правильном подборе аминокислот и важность для получения функционально полноценного результата адекватного пространственного взаиморасположения участников рибосомного цикла синтеза полипептидов (трансляция). Тем не менее в эволюции возникли **способы молекулярной детекции** и **«мечения» полипептидов, подлежащих деградации**. В одном из них участвует небольших размеров белок **убиквитин**, образуемый только клетками эукариот, узнающий соответствующий полипептид по N-концевой аминокислоте. В детекции могут принимать участие белки-**шапероны** (см. п. 2.4.4.4-д). «Выбраковке» и деградации подлежат белки с **ошибочно включенными аминокислотами**, что обычно сказывается на их **фолдинге, химически поврежденные**, а также **«старые»** молекулы. Основная роль в деградации белков принадлежит **лизосомам** (см. п. 2.4.4.4-в). Существуют также **внелизосомные механизмы**, например протеасомный (см. п. 2.4.1). Сбои в механизмах деструкции функционально «несостоятельных» полипептидов приводят у людей к тяжелой патологии (см. п. 2.4.8).

Источник KingMed.info

Важно помнить о **функциональном аспекте деградации белков**, образуемых эукариотической клеткой, среди которых есть как долгоживущие (гемоглобин), так и короткоживущие (многие регуля-торные белки). Время полужизни (период полураспада) нормально работающих белков колеблется от минут до суток и более. Особого внимания заслуживает **распад белков** мышечной ткани **при голодании**, направленный на высвобождение аминокислот с их использованием для поддержания энергетики организма (через механизм глюконеогенеза). Без такого распада человек не мог бы пережить голодание свыше 24 ч.

Напомним, что биоинформационный сегмент в мире жизни представлен первичными ДНК-текстами, а также вторичными РНК- и белковыми текстами. Складывается впечатление, что эволюционная стратегия в отношении базовых генетических текстов (ДНК) отдавала предпочтение выработке механизмов защиты, сохранения исходной «биологически правильной» и исправления возникающих искажений, тогда как в отношении РНК- и белковых текстов, в случае появления искажений, вполне допускались их уничтожение и замена биоинформационно полноценными путем нового синтеза.

2.4.6. ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЙ ПОТОК ЭНЕРГИИ

Поток энергии у представителей разных групп ныне существующих организмов обеспечивается различными механизмами энергообеспечения - фотоили хемосинтезом, брожением, дыханием.

2.4.6.1. Дыхательный обмен

Центральная роль в биоэнергетике клеток высших организмов принадлежит **дыхательному обмену**. В наиболее общем виде он включает реакции расщепления низкокалорийного органического «топлива» в виде глюкозы (гликогена), жирных кислот (жиров), аминокислот (белков) и использование выделяемой при этом энергии для образования универсального высококалорийного клеточного «топлива» - **АТФ**. Энергия АТФ, непосредственно или будучи «зарезервированной» в других макроэргических химических соединениях (креатинфосфат мышечной ткани), **преобразуется в тот или иной вид работы** - химическую (синтезы), осмотическую (поддержание градиентов или перепадов концентрации веществ), электрическую (поддержание градиентов и движения зарядов), конструктивную (сборка микротрубочек из субъединиц тубулина), механическую (мышечное сокращение, внутриклеточное перемещение структур), регуляторную (рис. 2.43).

Макроэргическим называют соединение, в химических связях которого содержится энергия в форме, доступной для использования в биологических процессах. Универсальным соединением такого рода служит **АТФ**. Высвобождение значительных количеств свободной энергии (около 30,5 кДж/моль на связь) происходит при гидролизе как третьей, так и второй концевых фосфатных групп молекулы АТФ. Это дает формальное основание обе фосфатные группы рассматривать как высокоэнергетические (макроэргические). В реальной биоэнергетике,

благодаря невозможности диффузии в клетку извне и, как следствие, необходимости постоянного внутриклеточного образования АТФ, самостоятельное значение имеет кругооборот, включающий гидролиз АТФ до АДФ (энергообеспечение проявлений жизнедеятельности) с оперативным ресинтезом АТФ из АДФ (аденозиндифосфорная кислота) и P_i (неорганический фосфат, пирофосфат). Таким образом, исключительная роль в энергообеспечении процессов жизнедеятельности отдана третьей фосфатной связи АТФ.

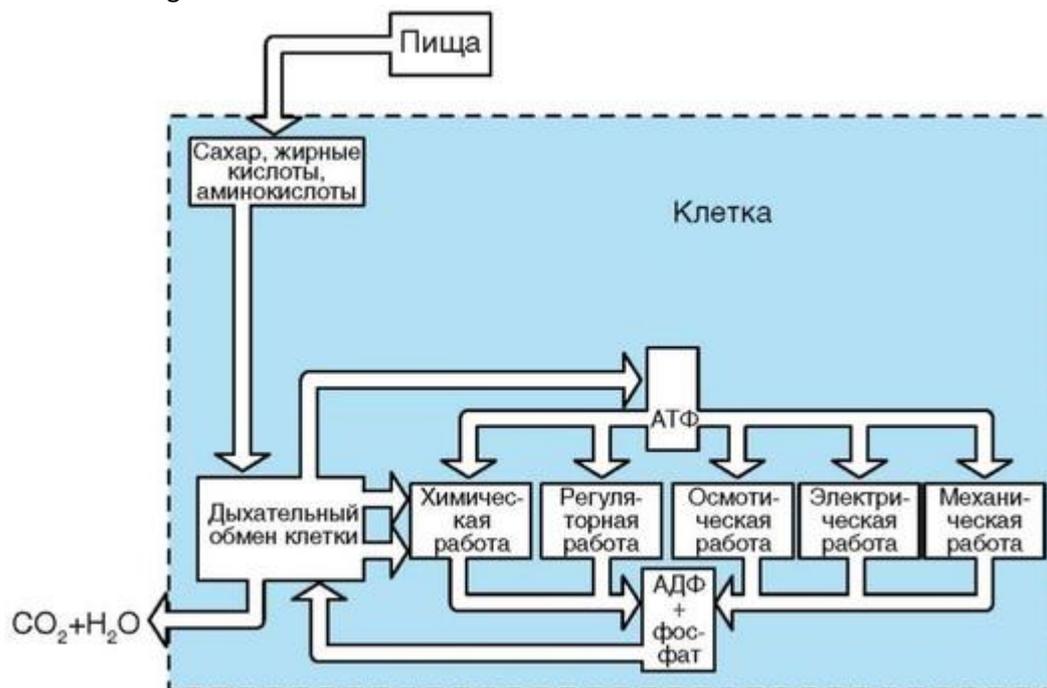


Рис. 2.43. Поток энергии в клетке

Особое место в дыхательном обмене принадлежит основному веществу (матриксу) цитоплазмы и митохондриям, что может быть проиллюстрировано на примере **окисления глюкозы**, которое в полном объеме состоит из трех этапов. Первый из них - **анаэробный гликолиз** - заключается в частичном расщеплении сахара и происходит в основном веществе цитоплазмы. Вследствие неполного окисления на этом этапе извлекается не более 10% энергии, содержащейся в исходном «топливе». При достаточном притоке к клеткам кислорода конечные продукты первого этапа окисления глюкозы в виде аниона пировиноградной кислоты (пируват) и восстановленной формы никотинамидадениндинуклеотида (*NADH*) поступают в митохондрии, где

окисляются - первое до CO_2 и H_2O , а второе до NAD^+ (**аэробный гликолиз**) с извлечением оставшейся энергии. В случае недостаточного притока кислорода, в частности, на фоне повышенных функциональных запросов (мышцы в начальной стадии реакции тревоги - частота сердечных сокращений еще не возросла в требуемой степени, а энергопотребности увеличены) *NADH* тут же в основном веществе цитоплазмы окисляется пируватом до NAD^+ , который необходим для поддержания первого (анаэробного) этапа гликолиза. Одновременно образуется анион молочной кислоты (лактат), который током крови переносится в печень, где используется для ресинтеза глюкозы (**глю-конеогенез**). Анаэробный гликолиз в связи с низким выходом АТФ на молекулу глюкозы является энергетически невыгодным. Однако у ряда организмов (дрожжи) ему принадлежит исключительное место. То же можно сказать и о некоторых типах клеток многоклеточных организмов, в частности эритроцитах, лишенных митохондрий. Возвращаясь к дрожжам, отметим, что в них в связи с неполным ее окислением накапливаются значительные запасы глюкозы. Последняя расщепляется с образованием спирта и углекислоты.

В клетках с полным окислением глюкозы образовавшийся на первом этапе **пируват** поступает в матрикс митохондрий. Здесь он подвергается окислительному (два электрона отдаются NAD^+) декар-боксилрованию (потеря карбоксильной группы) с переносом образовавшейся ацетильной группы на кофермент(коэнзим)А и в виде ацетил-кофермента(коэнзима)А (**ацетил-СоА**) включается в **цикл лимонной кислоты (цикл трикарбоновых кислот, цикл**

Кребса), составляющий содержание второго (аэробного) этапа гликолиза. *Ацетил-СоА* занимает ключевое положение во многих метаболических превращениях. Главная его функция связана с переносом ациль-ных остатков (двууглеродная конструкция) от различных по природе химических соединений в форме тиоэфиров, представляющих собой макроэргические соединения, в частности в цикл лимонной кислоты. Не вдаваясь в детали, заметим, что в процессе превращений пирувата в цикле лимонной кислоты также извлекается и запасается в виде АТФ определенное количество энергии. Дальнейшее извлечение энергии происходит на третьем этапе аэробного гликолиза, структурно связанного с внутренней мембраной митохондрий. Он заключается в переносе электронов (**окисление**) с восстановленных форм никотинамидаде-ниндинуклеотида (*NADH*) и флавинадениндинуклеотида (*FADH₂*), образующихся на первых двух этапах, на кислород с образованием воды.

Указанный перенос осуществляется благодаря наличию **электронно-транспортной цепи**. Выделяемая при этом порциями энергия фиксируется в третьей фосфатной связи молекул АТФ, синтез которых из АДФ и неорганического фосфата с участием фермента АТФ-синтазы (**фосфо-рилизирование**) также приурочен к внутренней мембране митохондрий. Сопряженные вместе окисление и фосфорилирование в митохондриях обозначают термином **окислительное фосфорилирование**. Третий этап аэробного гликолиза дает клетке основное количество молекул АТФ на исходную молекулу глюкозы. Суммарная производительность аэробного гликолиза с учетом того, что некоторое количество АТФ используется на месте в ходе описанных превращений, выражается цифрой 30-32 молекулы АТФ на молекулу глюкозы. Эффективность рассмотренного механизма энергообеспечения можно оценить по коэффициенту полезного действия. Для митохондрий он составляет 45-60%. Для сравнения: коэффициент полезного действия в современных двигателях внутреннего сгорания - 17%, в паровой машине - 8%.

Выход АТФ в митохондриях меняется с изменением проницаемости их внутренней мембраны для протонов. Максимальный выход АТФ соответствует ничтожной проницаемости, когда протоны буквально «вынуждены» проходить через фермент АТФ-синтазу. Описаны, однако, примеры, когда для решения специфических задач в названной мембране активно формируются протонные каналы. В такой ситуации процессы окисления, с одной стороны, и фосфорилирования АДФ до АТФ, с другой, разобщаются и АТФ не образуется. Вся выделяемая в этом случае энергия превращается в тепло. Описанный механизм работает, в частности, в клетках бурой жировой ткани (см. также 2.4.4.4.-д), чрезвычайно богатых митохондриями, в которых присутствует специальный белок терминоген. Функция последнего состоит в создании во внутренней мембране митохондрий протонных каналов, разобщении окислительного фосфорилирования и, как следствие, интенсификации теплопродукции. Образованное таким образом тепло позволяет сохранять на требуемом уровне температуру тела новорожденных, отличающихся незрелостью механизмов теплопродукции и терморегуляции.

Обеспечение энергозатрат организма происходит за счет окисления не только глюкозы (гликогена), но также жирных кислот (жиров) и избыточного (относительно потребности в них белковых синтезов) количества аминокислот. Содержание второго и третьего этапов окисления жирных кислот и аминокислот совпадают с таковым для глюкозы: это превращения в цикле лимонной кислоты и окислительное фосфорилирование. На первом этапе от молекул жирных кислот последовательно отщепляются по два углеродных атома, которые превращаются в ацетильную группу *ацетил-СоА*, поступающего в цикл лимонной кислоты. Аминокислоты на начальном этапе дезаминируются (теряют аминогруппу), после чего их углеродные части

Источник KingMed.info

используются для образования пирувата и/или *ацетил-СоА*, входящих далее в цикл лимонной кислоты.

Фосфорилирование той или иной макромолекулы, прежде всего белковой, заключающееся в переносе на нее фосфатных групп АТФ, обычно связывают с активацией функции, например каталитической. Известны примеры, когда фосфорилирование приводит к подавлению ферментативной активности. Так, фосфорилирование протеинкиназы *Cdk2*, участвующей в регуляции прохождения клеткой периодов *G1* и *S* клеточного цикла, по остаткам аминокислоты треонина активирует фермент, а по остаткам аминокислоты тирозина угнетает.

2.4.6.2. Фотосинтез

В основе энергетики жизни лежат окислительно-восстановительные процессы. Многие из нынешних обитателей планеты относятся к гете-ротрофам. Источником энергии (реально, высоко энергезированных электронов) для них служат поступающие в организм в виде пищи органические вещества, отличающиеся повышенным энергетическим потенциалом. Использование указанного потенциала связано с процессом дыхания, в ходе которого соответствующие вещества, окисляясь и, следовательно, разрушаясь, отдают свои электроны, транспортируемые по дыхательной цепи митохондрий на кислород. Существенным результатом происходящих превращений является синтез ключевого элемента биоэнергетики - АТФ. В приведенной схеме обращают внимание два обстоятельства: во-первых, конечность запасов источника электронов - предсуществующей органики, во-вторых, необходимость в достаточном количестве свободного кислорода (эффективный акцептор электронов). Среди современного населения Земли известны формы, энергетика которых не связана с наличием в природе готовых органических веществ. Это хемоавтотрофы, использующие в качестве донора электронов при синтезе АТФ мощные восстановители, такие, в частности, как сероводород, выделяемый в мировом океане на больших глубинах в районах разломов земной коры (см. п. 1.4.4 - черные и белые «курильщики»). Однако и в этом случае есть проблема конечности запасов источника электронов (H_2S) для нужд биоэнергетики. Для «гарантированного» и устойчивого поддержания жизни во времени, оптимизации и создания высокоэффективных систем энергообеспечения жизнедеятельности организмов в эволюции возникает механизм фотосинтеза, обуславливающий стабильный кругооборот электронов и при этом отличающийся рядом принципиальных преимуществ. Во-первых, в нем задействован практически неисчерпаемый источник энергии - солнце, во-вторых, практически неисчерпаемый донор электронов - вода. И в-третьих, выделяющийся в ходе фотосинтеза кислород является практически неисчерпаемым акцептором электронов. Сказанное объясняет, почему фотосинтез рассматривается как одно из важнейших достижений эволюции жизни.

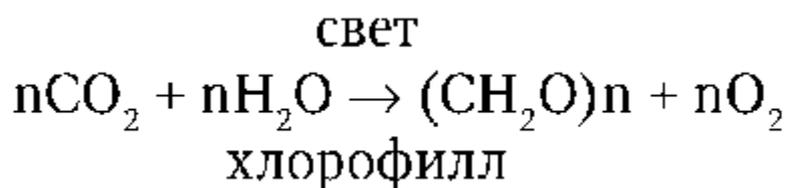
Фотосинтез определяют как процесс образования веществ, прежде всего органических (хотя и не только, см. O_2), из неорганических за счет использования энергии солнечного света. Он осуществляется в специальных органеллах клеток зеленых растений - хлоропластах. Особенность последних - наличие пигмента хлорофилла.

Хлоропласты представляют собой структуры протяженностью 5-10 мкм и диаметром 2-4 мкм, ограниченные двойной мембраной, что соответствует симбиотической гипотезе их происхождения. **Внешняя и внутренняя мембраны** отличаются по своей проницаемости. Пространство, ограниченное внутренней мембраной, составляет **строму** органеллы. В клетках зеленых водорослей может быть всего по одному хлоропласту, тогда как в клетках высших растений их число обычно составляет 10-30, а в гигантских клетках палисадной ткани махорки - около 1000. Хлоропласты, так же как и митохондрии, имеют собственный аппарат биосинтеза

Источник KingMed.info

белка, представленный ДНК, рибосомами, набором транспортных РНК. Этот аппарат по ряду существенных характеристик схож с соответствующим аппаратом прокариот, что также говорит в пользу симбиотической гипотезы происхождения. Специфично для хлоропластов присутствие в них особых образований, погруженных в строма, - **гран**. Они образованы уложенными наподобие столбика монет замкнутыми мембранными мешками - **тилакоидами**. В тилакоидах размещен **хлорофилл**, молекулы которого упакованы в тилакоидных мембранах в виде двух функциональных комплексов или **фотосистем I и II**. Фотосистемы представлены, с одной стороны, молекулами так называемого «обычного» (**антенного**) **хлорофилла**, улавливающего кванты солнечного света (фотоны), что переводит его в активированное (возбужденное) состояние в связи с перемещением электронов на энергетически более высокую атомную орбиту. С другой стороны, в них обнаруживаются участки, представленные особыми комплексами хлорофилла с белками (**реакционные центры**), выполняющими функцию своеобразных «ловушек» высокоэнергетизированных электронов (в общем виде энергии). В реакционном центре электрон, находящийся на верхнем энергетическом уровне, передается акцептору, составляющему первое звено цепи переноса электронов. Эта цепь (**комплекс цитохромов *b_f***) - третья составляющая фотосистем.

Происходящий в хлоропластах фотосинтез представляет собой совокупность взаимосвязанных процессов, приводящих в конечном итоге к связыванию углекислоты, образованию сахаров и выделению кислорода. Обобщенная реакция фотосинтеза имеет следующий вид:



Для осуществления необходимых синтезов на определенном этапе фотосинтеза образуются значительные количества АТФ.

В фотосинтезе различают световую и темновую фазы. Непременное условие первой - освещение растения (в природных условиях солнечным светом). Важным событием **световой фазы**, на которую приходится **поглощение хлорофиллом световых квантов**, является **фотолиз воды**, в ходе которого для дальнейших процессов **мобилизуются электроны и протоны** (атомы водорода H), **образуется** выделяемый в атмосферу **кислород**. В этой же фазе часть поглощенной световой энергии используется **для синтеза АТФ**, которая затем расходуется при образовании органических веществ. Хлоропласты - исключительно продуктивные производители АТФ. Выход макроэнергетического соединения в хлоропластах примерно в 30 раз превосходит его количество, образуемое митохондриями клеток того же растения. Еще один существенный результат световой фазы - **восстановление *NADP+* до *NADPH***, который далее играет роль восстановителя в реакциях синтеза углеводов. Фотосистемы I и II, а также цепь переносчиков электронов располагаются в тилакоидной мембране, тогда как **образование углеводов** происходит в строме хлоропласта. Последнее событие приурочено к **темновой фазе**. Обозначение указанной фазы как тем-новой не означает, что соответствующие процессы требуют отсутствия освещения. Эти процессы в полном объеме осуществляются и в листьях освещаемых растений. Принятое название подчеркивает, что для них нет необходимости в свете. Организуя кругооборот электронов на основе использования энергии солнца, обеспечивая образование органических веществ из неорганических, обогащая атмосферу планеты кислородом, фотосинтез представляет собой один из безусловных факторов существования и

Источник KingMed.info

развития (включая прогрессивную эволюцию живых форм) современной жизни. То, что фотоавтотрофы входили в биоту планеты с древнейших времен, доказывает обнаружение остатков хлорофилла (неразложившийся пигмент цианобактерий фикобилин) в породах, образование которых отстоит от наших дней на 3,1 млрд лет. Углерод заведомо органического происхождения (т.е. принимавший участие в фотосинтезе) со смещенным в сторону более легкого изотопа соотношением ^{12}C и ^{13}C обнаружен в породах из формации Исуа в Гренландии, возраст которых 3,8 млрд лет.

2.4.7. ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЙ ПОТОК ВЕЩЕСТВ

Существование живых форм любого плана структурно-функциональной организации базируется на определенном наборе реакций образования, распада и модификаций структуры химических соединений различной природы, объединяемых понятием **обмен веществ (метаболизм)**. Высокая степень упорядоченности обменных процессов дает основания говорить о внутриклеточном **потоке веществ**. Важнейшая характеристика этого потока, осуществляемого согласно своеобразному метаболическому «сценарию», - взаимосвязь (вплоть до взаимозаменяемости) и скоординированность превращений главных его участников - белков, жиров, углеводов. Указанные превращения идут в одних случаях достаточно простыми, в других - более сложными путями. Эти пути в их конкретном выражении у представителей разных групп живых существ могут не совпадать, однако главный принцип организации метаболизма - взаимосвязь и скоординированность отдельных блоков потока веществ - реализуется неукоснительно. Так, жирные кислоты, необходимые для синтеза липидов, через промежуточные продукты в виде пирувата и *ацетил-СоА* относительно просто образуются из глюкозы. Вместе с тем синтез последней непосредственно из жирных кислот в животной клетке исключен, вследствие невозможности превращения *ацетил-СоА* в пируват и затем в глюкозу. Если иметь в виду жиры в качестве источника пополнения в организме запасов глюкозы, то у животных для ее образования используется такой продукт гидролитического расщепления жиров, как глицерин. Сам же глицерин легко синтезируется из промежуточных метаболитов гликолиза. С другой стороны, растительные и бактериальные клетки, благодаря наличию в них наряду с циклом лимонной кислоты так называемого **глиоксилатного цикла**, способны направлять часть *ацетил-СоА* условно в «обратном» направлении по пути, дающему в итоге глюкозу.

Центральное место в интеграции различных блоков внутриклеточного обмена веществ принадлежит **циклу лимонной кислоты**. Через указанный цикл, образно называемый иногда «**метаболическая мельница**», проходит путь углеродных атомов (**углеродных «скелетов»**) большинства соединений, служащих промежуточными продуктами синтеза и распада химических компонентов клетки. В нем происходит выбор пути превращения того или иного соединения, а также переключение обмена клетки с одного пути на другой, например, с углеводного на жировой. Таким образом, дыхательный обмен, составляющий основу внутриклеточного потока энергии у большинства живых форм, одновременно образует ведущее звено внутриклеточного потока веществ, объединяющего в единое целое жизненно необходимые метаболические пути превращения белков, углеводов, жиров, нуклеиновых кислот и др. (рис. 2.44).

2.4.8. ДРУГИЕ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ОБЩЕГО ЗНАЧЕНИЯ

Увязанные в единое целое потоки информации, энергии и веществ осуществляются непрерывно, составляя абсолютное условие существования клетки в качестве живой системы. Наряду с процессами, включенными в эти потоки непосредственно, клетки характеризуются рядом функциональных отправлений, которые также следует причислить к обязательным и жизненно

Источник KingMed.info

важным. Нередко такие механизмы лишены специального структурного оформления в виде соответствующего типа органелл. Функциональное предназначение некоторых из них, что представляет непосредственный интерес для медицины, состоит в препятствии накопления балластных продуктов или в снижении вредоносных последствий от образования в ходе естественных внутриклеточных процессов побочных продуктов, характеризующихся в силу их химической природы разрушительным действием на клеточные структуры. Остановимся на некоторых из них.

Выше говорилось об уничтожении полипептидов с ошибочно включенными аминокислотами и «неправильным» фолдингом (см. п. 2.4.5.7).

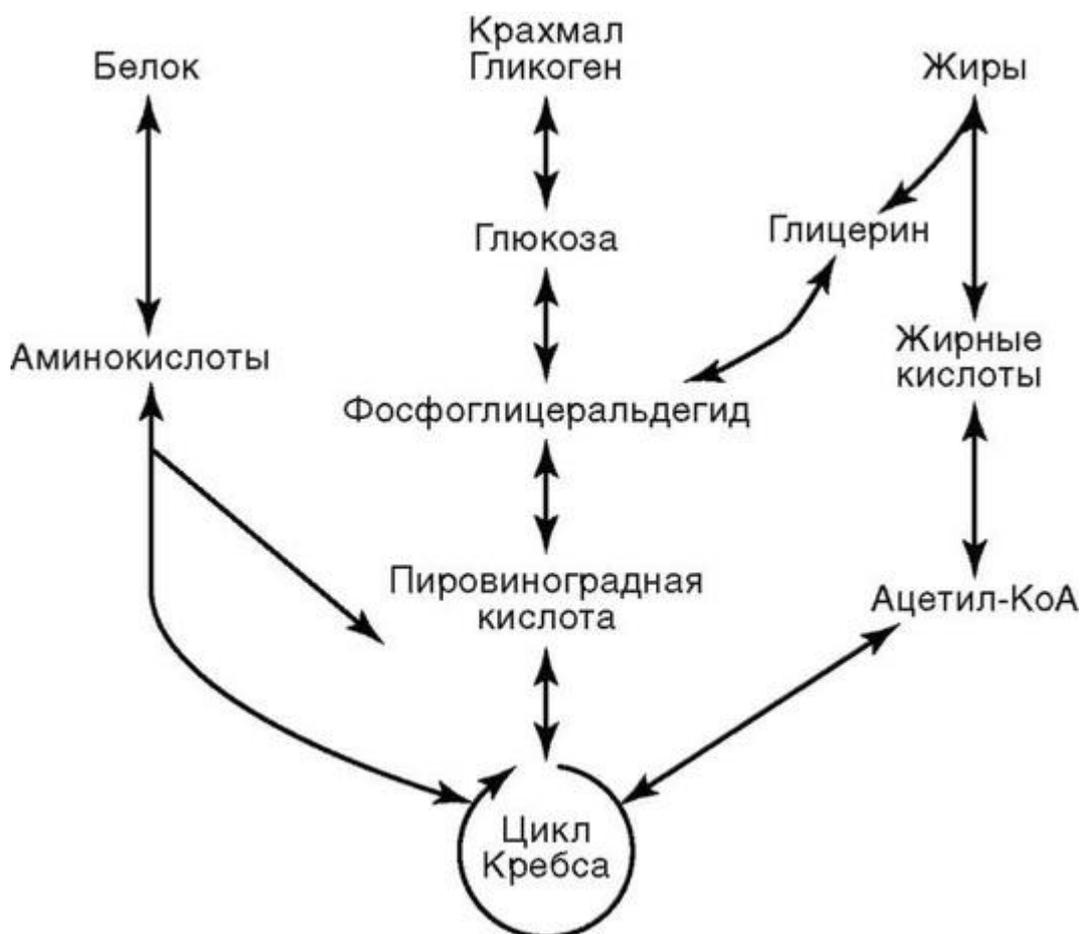


Рис. 2.44. Поток веществ в клетке

Лишь часть белков с аномальной конформацией разрушаются легко. Категория неразрушаемых **аберрантных** (аномальных, «неправильных») **конформеров** последовательно создает все более сложные белковые агрегаты. Последние по микротрубочкам перемещаются в область центра их организации (см. п. 2.4.4.4-ж), где, связываясь с белками распадающихся промежуточных микрофиламентов, образуют так называемые **агрегосомы**. Указанным структурам приписывают защитную функцию связывания и, таким образом, блокирования вмешательства белков с «неправильной» третичной структурой в ход внутриклеточных процессов. Вместе с тем их избыточное накопление служит причиной гибели клеток, в частности нервных, при таких нейродегенеративных заболеваниях, как болезнь Паркинсона, боковой амиотрофический склероз. При болезни Паркинсона конкретно речь идет о нарушении метаболизма белка α -синуклеина. Хотя его функция однозначно не установлена, на него приходится примерно 1% всех белков нервной ткани. Сборка α -синуклеина в форме фибриллярных структур предшествует образованию специфических для рассматриваемого

Источник KingMed.info

заболевания включений, накапливающихся в цитоплазме нервных клеток - телец Леви, в образовании которых принимают участие промежуточные микрофиламенты и агреасомы. Мутантный α -синуклеин на 33-42% снижает протеолитическую активность ферментов протеасом. Предположительно это обстоятельство не дает агреасомам выполнить свою защитную функцию. Напротив, они становятся источником накапливающегося балластного материала, приводящего в конечном итоге к клеточной гибели.

Возможны и другие механизмы, связанные с нарушением детекции и адресной доставки дефектного (балластного) материала к месту его уничтожения. В некоторых случаях с помощью генноинженерного подхода реально активная коррекция путем исключения образования нежелательного внутриклеточного балласта. Так, в первом десятилетии текущего XXI столетия американские ученые получили линию трансгенных мышей с «омоложенной» печенью, которые даже в очень продвинутом возрасте (22-26 месяцев) при добавлении в пищу нежелательных (вредных) примесей осуществляли высокоэффективную детоксикацию последних благодаря возможности адекватного синтеза лизосомальных рецепторов к белкам-шаперонам, адресно доставляющим дефектные (вредные) молекулы к лизосомам печеночных клеток с целью их уничтожения.

Переход от анаэробного (бескислородного) обеспечения жизнедеятельности организмов энергией к аэробному, в котором в качестве акцептора электронов задействован кислород, стал одним из решающих достижений эволюционного процесса. Однако, как в любом механизме, в работе митохондриальной цепи переноса электронов иногда происходят сбои, нередко провоцируемые мутациями митохондриальной ДНК. Они приводят к утечке электронов с промежуточных переносчиков. «Правильный» ход событий в дыхательной цепи предусматривает полное восстановление молекулярного кислорода с неизменным участием фермента цитохромоксидазы. Приобретение кислородом неспаренного электрона (неполное восстановление) превращает его в исключительно реакционноспособный **анион-радикал-супероксид** (O_2^-), который атакует ковалентные связи других молекул, вызывая их повреждения и функциональные потери. Опасность супероксида многократно усиливается тем, что его взаимодействие с другими молекулами порождает следующие радикалы, также высоко реакционноспособные. Возникает цепная реакция.

В настоящее время со свободнорадикальными процессами в клетках ученые связывают многие деструктивные явления - от возрастных и поражения ионизирующими излучениями до развития катаракты хрусталика глаза и инфаркта миокарда. Дисбаланс в функциях про- и антиоксидантов проявляется в таких принципиальных изменениях клеточной судьбы, как онкогенез и апоптоз.

Накопление продуктов частичного восстановления кислорода (**свободные радикалы, активные формы кислорода - АФК**), перекисей липидов и белков обозначают как **окислительный стресс**. Хотя существует химическая возможность самопроизвольного «угасания» свободнорадикального цепного процесса, она, по-видимому, не обеспечивает требуемый уровень защиты клеток от активных форм кислорода. В связи с этим эволюция «нашла» специальные механизмы защиты внутриклеточных структур и механизмов от супероксидов. Один из них заключается в блокировании опасных цепных реакций особой категорией молекул (**антиоксиданты**), которые, реагируя со свободными радикалами, превращаются в радикалы с малой реакционноспособностью. Главные естественные антиоксиданты - два витамина: **аскорбиновая кислота** (витамин С) и **α -токоферол** (витамин Е). Примечательно, что первый витамин - водорастворимый, а второй - жирорастворимый. Таким образом, они способны защитить компоненты как основного вещества цитоплазмы, так и мембранные липиды. Наряду с названными, антиоксидантные свойства демонстрирует ряд

Источник KingMed.info

других соединений, в частности β -каротин (витамин А), мочева кислота, желчный пигмент билирубин. Еще один способ борьбы со свободными радикалами связан с наличием фермента **супероксиддисмутазы**, катализирующего превращение супероксида в **перекись водорода** (H_2O_2), которая затем разрушается ферментом **каталазой**. Последнее необходимо, так как в присутствии ионов металлов, например железа, перекись водорода дает высокорекреационноспособные **гидроксильные радикалы** (OH и OH^+). Супероксиддисмутаза отличается практически повсеместным распространением в организме. Она обнаруживается в клетках подавляющего большинства тканей, где в наибольших концентрациях присутствует в митохондриях, лизосомах и пероксисомах, а также в лимфе, плазме крови, синовиальной жидкости суставов. Перекись водорода, а также обладающие вредоносным действием **органические гидроперекиси** ($R-O-OH$) восстанавливаются до воды под действием еще одного фермента - **глутатионпероксидазы**.

Представления об активных формах кислорода, свободнорадикаль-ных процессах и окислительном стрессе как об исключительно негативных факторах и явлениях не отвечают всем фактам, известным науке.

При низком внутриклеточном парциальном давлении O_2 , отвечающем физиологическим условиям, перекисное окисление субстратов вполне встраивается в нормальные метаболические процессы и решает позитивные задачи. Так, активные формы кислорода, пероксиды липидов и белков выполняют функции сигнальных молекул, активируя транскрипционные факторы и модифицируя экспрессию генов, инициируют или, напротив, подавляют активность ряда ферментов - обязательных участников фундаментальных биологических процессов, включая клеточную пролиферацию, апоптоз и др. В связи с отмеченным, акценты в свободнорадикальной тематике смещаются в область **баланса/дисбаланса прооксидантных и антиоксидантных явлений**.

2.4.9. КЛЕТКА КАК ЦЕЛОСТНАЯ СТРУКТУРА. ПОНЯТИЕ О БИОКОЛЛОИДЕ

Выше мы познакомились с различными по строению и функциям клеточными структурами. Однако, взаимодействуя с окружающей средой, клетка ведет себя как **целостная структура**. Об этом свидетельствует стереотипный характер реакции разных типов клеток на действие раздражителей, вызывающих переход клетки в возбужденное состояние. Указанное состояние характеризуется обратимыми изменениями протоплазмы (живого вещества, как такового), запускающими ту или иную клеточную деятельность и одновременно являющимися основой последней.

Понятию **протоплазмы**, которым обозначается все содержимое живой клетки, включающее одновременно ядро, цитоплазму и находящиеся в них структуры, принадлежит в науке о жизни заметное место. Свойствам протоплазмы приписывается важная роль функционального объединения структурных компонентов и компартментов клетки. В целом, ее принято рассматривать как особую **многофазную коллоидную систему** или биокolloид. От обычных коллоидных систем, относящихся к области научных интересов химиков, **биокolloид** отличается сложностью дисперсной фазы. Ее основа представлена макромолекулами, которые находятся либо в составе плотных микроскопически определяемых структур (органеллы), либо в диспергированном состоянии, близком к растворам или рыхлым сетевидным структурам типа гелей (основное вещество цитоплазмы, ядерный сок).

Будучи **коллоидным раствором** в физико-химическом смысле, биокolloид благодаря наличию липидов и крупных частиц проявляет

Источник KingMed.info

одновременно свойства соответственно **эмульсии** и **суспензии**. На обширных поверхностях макромолекул фиксируются различные «примеси», что вызывает изменение конформации этих макромолекул и, как следствие, агрегатного состояния протоплазмы.

Между крайними полюсами организации протоплазмы в виде, с одной стороны, вязких гелей, а с другой, - растворов имеются переходные состояния. При указанных переходах совершается работа, в результате которой осуществляются различные функциональные преобразования - образование мембран, сборка микротрубочек или ми-крофиламентов из субъединиц, внутриклеточный транспорт веществ и структур, выброс железистой клеткой секрета, изменение геометрии (конформации) белковых молекул, приводящее к торможению или, напротив, усилению активности ферментов. Специфическая особенность биокolloида состоит в том, что в физиологических условиях в силу наличия особого ферментативного механизма переходы протоплазмы из одного агрегатного состояния в другое обратимы. Названное свойство биокolloида обеспечивает клеткам способность при наличии энергии многократно совершать работу в ответ на действие стимулов.

Вопросы для самоконтроля

1. Перечислите основные положения клеточной теории.
2. В чем основные отличия прокариотического и эукариотического типов клеточной организации?
3. Охарактеризуйте особенности строения и функций структурных элементов эукариотической клетки.
4. В чем заключаются особенности структуры, локализации и функций хроматина интерфазных хромосом?
5. Какие последовательности ДНК выявлены в геноме человека?
6. Какие нуклеиновые кислоты участвуют в реализации потока информации в клетке? Охарактеризуйте их строение и функции.
7. Перечислите этапы реализации генетической информации в клетке и объясните их.
8. Как осуществляется репликация ДНК?
9. Изложите основные закономерности внутриклеточных потоков веществ и энергии.

СУЩЕСТВОВАНИЕ КЛЕТКИ ВО ВРЕМЕНИ

3.1. жизненный цикл клетки

Закономерные изменения структурно-функциональных характеристик клетки во времени составляют содержание ее жизненного цикла. **Жизненный (клеточный) цикл** (рис. 3.1) - это период существования клетки от момента ее образования вследствие деления материнской клетки до собственного деления или смерти. Обязательный компонент клеточного цикла - **митотический (пролиферативный) цикл** (см. рис. 3.1, I) - комплекс однонаправленных, регулируемых, взаимосвязанных и упорядоченных во времени событий, происходящих в процессе подготовки клетки к делению, на протяжении деления и непосредственно после завершения деления. Кроме митотического цикла, в жизненный цикл клеток многоклеточного организма входит **период**

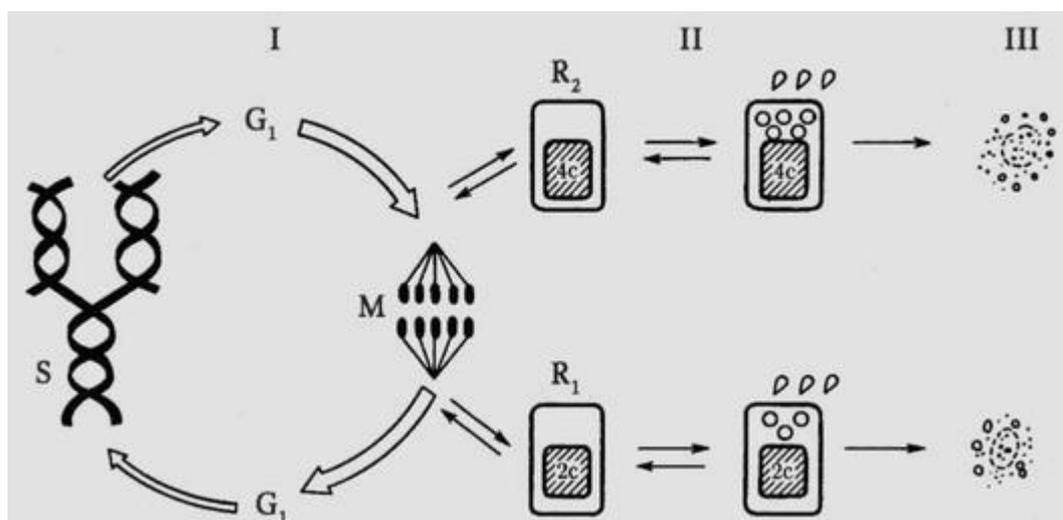


Рис. 3.1. Жизненный цикл клетки многоклеточного организма: I - митотический цикл; II - переход клетки в дифференцированное состояние; III - гибель клетки; G₁ - пресинтетический (постмитотический) период интерфазы; G₂ - постсинтетический (предмитотический) период интерфазы; S - синтетический период интерфазы; R₁ и R₂ - периоды покоя; M - митоз; 2c - диплоидное количество ДНК, 4c - тетраплоидное (удвоенное) количество ДНК

выполнения специфических функций (дифференцированные клетки) и периоды покоя (образовавшиеся вследствие митоза дочерние **клетки «ожидает сигнала»**, дифференцироваться им или вступить в митотический цикл).

На рисунке 3.1, II показаны два выделявшихся цитологией второй половины XX в. периода покоя, обозначенные как R₁ и R₂ (англ., *resting*). Первый из них (R₁) приходится на постмитотический (предсинтетический) период интерфазы митотического цикла и иногда обозначается как период G₀, второй (R₂) - на постсинтетический (предмитотический) период интерфазы и иногда называется периодом G₂. Наличие постсинтетического периода покоя (R₂ или G₂) не без оснований оспаривается.

Известны типы клеток, жизненный цикл которых представлен исключительно митотическим циклом, например бластомеры на стадии дробления в эмбриогенезе.

Завершение клеткой жизненного пути может быть связано с запуском механизма генетически контролируемой гибели (самоуничтожение) или **апоптоза**, а также гибели вследствие действия неблагоприятных факторов - **клеточный некроз** (см. п. 3.1.2 и рис. 3.1, III).

Еще одно направление изменения состояния клетки в жизненном цикле состоит в ее **бласттрансформации**, т.е. превращении в опухолевую (на рис. 3.1 не показано). Она приобретает способность к бесконечному размножению и становится формально бессмертной (в условиях *in vitro*, вне организма). *In vivo* длительность жизни такой клетки ограничивается смертью организма-носителя опухоли.

3.1.1. МИТОТИЧЕСКИЙ (ПРОЛИФЕРАТИВНЫЙ) ЦИКЛ

Митотический или **пролиферативный цикл** (см. рис. 3.1, l) - основа жизненного цикла всех клеток. Его биологическое значение состоит в том, что он обеспечивает преемственность хромосом (и следовательно, геномов, генов) в ряду клеточных поколений, т.е. образование клеток, равноценных по количеству ДНК и содержанию наследственной информации. Таким образом, цикл является универсальным механизмом воспроизведения клеточной организации эукариотического типа в индивидуальном развитии живых форм.

До последней трети XX в. вопрос о том, гарантирует ли митотический процесс наследование клетками полноценной во всех отношениях генетической информации, был предметом научных споров. Удачное клонирование животных: лягушки (рис. 3.2), мыши, свиньи, козы, овцы,

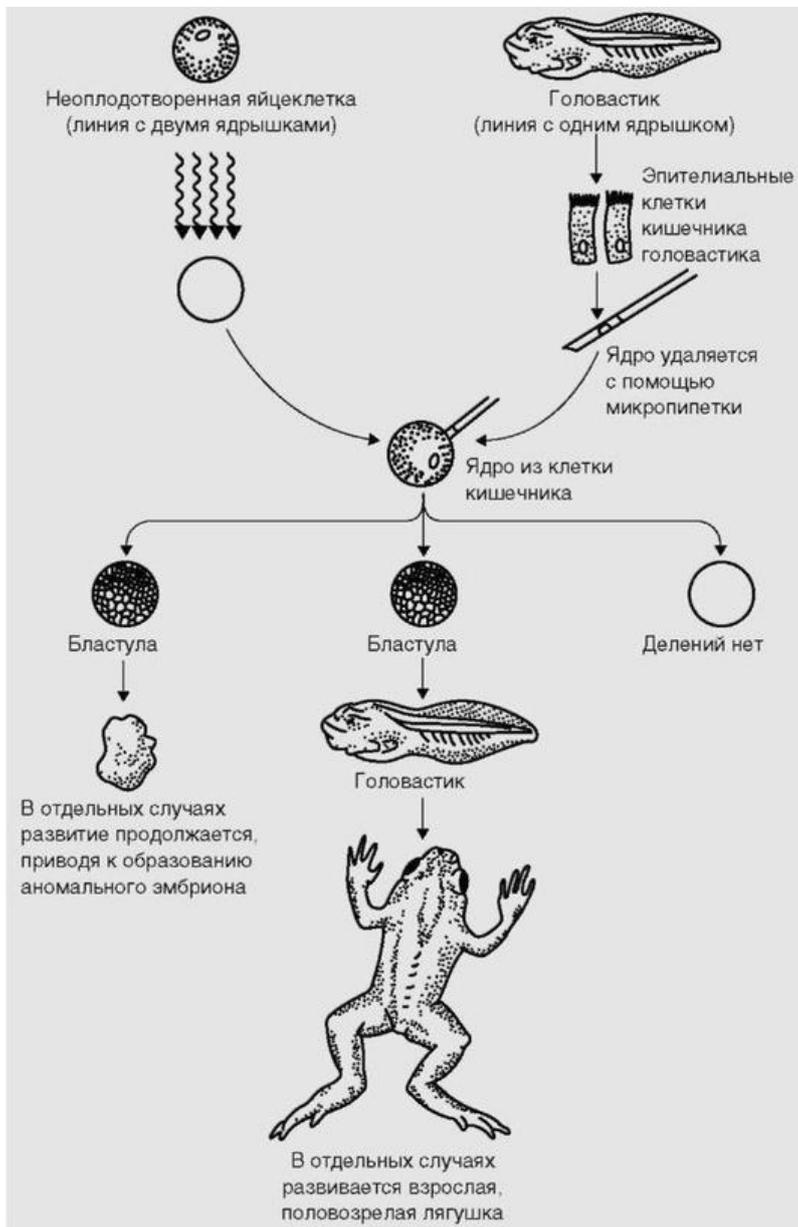


Рис. 3.2. Биоинформационная полноценность (количественная и качественная) ДНК ядер соматических клеток. Успешное репродуктивное клонирование амфибий. Схема опытов

крупного рогатого скота, - из клеток с цитоплазмой от яйцеклетки и ядром от соматической клетки (в случае известной овцы Долли - ядро клетки молочной железы) является основанием для утвердительного ответа. Известно, однако, что репродуктивное клонирование, имеющее целью получить новый организм, дает высокий процент потомства с отклонениями в развитии (уродства).

Источник KingMed.info

В ходе эволюции многоклеточных организмов митоз послужил основой **мейоза**, представляющего собой центральный и специфический механизм образования половых клеток - гаметогенеза. Мейоз встречается у всех видов организмов, размножающихся половым путем. Принципиальный с общебиологических позиций **результат митоза** состоит в сохранении в ряду клеточных поколений постоянного диплоидного количества хромосом. **Мейоз**, напротив, **приводит к образованию** из диплоидных клеток **гаплоидных гамет**. При оплодотворении свойственный виду диплоидный набор хромосом (кариотип) восстанавливается.

Главные события митотического цикла заключаются в **репликации** (самоудвоении, самокопировании) **наследственного материала** - ДНК материнской клетки, а также в **равномерном** и **равноценном распределении** этого материала между дочерними клетками. Указанным событиям сопутствуют закономерные изменения морфологической и химической организации хромосом (см. пп. 2.4.3.4, 2.4.3.4-а, 2.4.3.4-б, 2.4.5.3). По двум названным событиям в митотическом цикле выделяют **репродуктивную** и **разделительную фазы**, соответствующие **интерфазе** и **собственно митозу** классической цитологии.

3.1.1.1. Клетка в митотическом цикле. Интерфаза

В начальный отрезок интерфазы (**постмитотический, предсин-тетический** или **период G₁**) восстанавливаются черты организации интерфазной клетки, завершается формирование ядрышка, начавшееся в телофазе митоза. В цитоплазме, параллельно реорганизации ультраструктуры, интенсифицируется биосинтез белка, значительные количества которого предназначаются для вновь создаваемого ядра. Энергичное образование белка способствует восстановлению важного клеточного параметра - ее массы. Если клетке предстоит вступить в очередной митотический цикл, синтезы приобретают направленный характер. Формируется пул химических предшественников ДНК, образуются ферменты и другие белки репликации. Вступление клетки в следующий, синтетический период интерфазы требует прохождения ею **точки рестрикции**, приходящейся на конец периода G_1 .

Предположительно переход клетки из G_1 -периода в период S связан с наличием инсулиноподобного фактора роста, который, воздействуя на специфический белок-рецептор клеточной оболочки, запускает процесс **сигнальной трансдукции**: последовательно активируются белки-переносчики сигнала (G-белки, ферменты цитоплазматические тирозинкиназы, активируемые ими белки-циклины и др.), белки, связывающиеся с ядром (обеспечивают, по всей видимости, перенос сигнальных молекул или сигнальных комплексов через ядерную оболочку), белки-транскрипционные факторы (способны к специфическому взаимодействию с белками промоторов определенных генов, обуславливая их активацию или репрессию, см. также п. 2.4.3.1 - белки теплового шока). В зависимости от того, какие гены активируются, а какие репрессируются, клетка либо вступает в синтетический период митотического цикла (выбор направления «пролиферация»), либо в дифференцировку (см. рис. 3.1).

Если клетка не проходит точку рестрикции, то она выходит из митотического цикла и либо, как уже говорилось, встает на путь **специализации (дифференцировки)** в определенном структурно-функциональном направлении (см. рис. 3.1, II), либо **приостанавливает свое движение по клеточному циклу** (ни подготовки к митозу, ни дифференцировки), переходит в период покоя и, если это период R_1 , сохраняется в G_0 клеточной популяции (см. здесь же, ниже). Некоторые типы специализированных клеток (эритроциты) навсегда утрачивают перспективу вернуться в митотический цикл и, в конце концов, гибнут (**терминальная дифференцировка** -

Источник KingMed.info

см. рис. 3.1, III), тогда как другие (лимфоциты, фибробласты, печеночные клетки) сохраняют указанную перспективу и в соответствующих условиях вновь переходят к делению (см. рис. 3.1, II). Клетки, приостановившие движение по клеточному циклу и находящиеся в периоде R_1 интерфазы, составляют **G_0 -клеточную популяцию**. Они возвращаются в митотический цикл при действии стимулирующих митоз (митогенетических) сигналов.

В **синтетическом** или **периоде S** интерфазы происходит **удвоение количества (репликация) наследственного материала клетки**. За некоторыми исключениями (дистраивание цепей недореплицированной ДНК теломер хромосом, см. п. 2.4.3.4-г) ДНК реплицируется полуконсервативным способом (см. п. 2.4.5.3, а также рис. 2.25). За митотический цикл ДНК реплицируется один раз. Механизм, блокирующий повторную репликацию, не выяснен. Предположительно он связан с функцией белков репликативного комплекса (см. п. 2.4.5.3).

Вхождение клетки в митотический цикл запускается митогенным (митогенетическим) сигналом, роль которого обычно выполняет соответствующий фактор роста. Фактор роста активирует внутриклеточный сигнальный путь (явление сигнальной трансдукции, см. здесь же, выше), результатом чего является включение в процесс **Cdk**. Их переход в функционально активное состояние происходит путем соединения двух субъединиц - каталитической и белка из семейства **циклинов**. В клетках млекопитающих имеется девять разных циклинов и семь разных *Cdk*. Их различные комбинации обуславливают регуляцию прохождения клеткой отдельных периодов митотического цикла. Так, прохождение клеткой синтетического (S) периода требует последовательной смены комплексов «циклин A - Cdk 2» и «циклин B - Cdk 2». Циклин B принимает участие также в завершающей фазе митотического цикла: его деградация необходима для вступления клетки в анафазу митоза. Начальный отрезок периода G_1 интерфазы осуществляется при участии комплекса «циклин D - Cdk 4» и/или «циклин D - Cdk 6». Эти же комплексы необходимы для возвращения в митотический цикл клеток из G_0 -популяции. Завершающая часть предсинтетического периода требует участия комплекса «циклин E - Cdk 2». Смена периодов интерфазы, временные отношения между интерфазой и митозом определяются тем, что во время предшествующего периода образуются транскрипционные факторы, активирующие гены, контролирующие последующий период: $G_1 \rightarrow S \rightarrow G_2 \rightarrow$ митоз. В клетках, прошедших синтетический период, хромосомы содержат удвоенное, в сравнении с обычным для соматических клеток диплоидным ($2c$, где c - гаплоидное количество ДНК), тетраплоидное ($4c$) количество генетического материала (ДНК).

Наряду с ДНК, в периоде S интерфазы интенсивно образуются РНК и белки, причем **количество гистоновых белков**, так же как и ДНК, **строго удваивается**. Последнее не удивительно, имея в виду нахождение ДНК в хромосомах в составе нуклеогистонового комплекса. При этом массовые отношения ДНК и гистонов составляют 1:1.

В синтетическом периоде удваивает свое количество незначительная часть митохондриальной ДНК, тогда как основная ее часть реплицируется в пост(после)синтетическом (G_2) периоде интерфазы.

Из других цитоплазматических событий периода S следует назвать **удвоение центриолей клеточного центра**.

Отрезок времени от окончания синтетического периода до начала митоза обозначают как **пост(после)синтетический, предмитотиче-**

ский или **период G_2** . Он отличается активным образованием РНК и белков. Некоторые из этих белков прямо связаны с предстоящим митозом. К ним относятся, в частности, тубулины, идущие

Источник KingMed.info

на построение микротрубочек веретена деления. В периоде G_2 завершается **удвоение суммарной клеточной массы**. Реализация программы периода G_2 требует своего циклинкиназного комплекса: «циклин B - Cdk 1». Названный комплекс вводит клетку в митоз и регулирует ход последнего.

3.1.1.2. Клетка в митотическом цикле. Митоз

Собственно **митоз** делят на четыре фазы (рис. 3.3 и табл. 3.1). **Таблица 3.1.** События последовательных фаз митоза

Фаза митоза	Содержание изменений
Профаза	Хромосомы спирализуются (конденсируются) и приобретают вид нитей, хорошо различимых в световой микроскоп. Каждая из них представлена двумя тесно прилегающими друг к другу дочерними (сестринскими) хроматидами, связанными во многих точках. Ядрышко разрушается. Ядерная оболочка распадается на пузырьки, а ее плотная пластинка исчезает в связи с деполимеризацией микрофиламентов. В цитоплазме уменьшается количество структур шероховатой эндоплазматической сети и число полисом. Фактически прекращается синтез РНК, интенсивность синтеза белка снижается на 75%. Пластинчатый комплекс Гольджи распадается на везикулы. Центриоли двумя парами (диплосомы) расходятся к полюсам клетки. Начинается образование веретена деления. Описанное соответствует событиям в клетках животных. В клетках большинства видов растений формирование веретена деления происходит без участия центриолей. Механизм поляризации веретена деления и митоза в целом в данном случае точно неизвестен
Метафаза	Максимально спирализованные хромосомы выстраиваются в плоскости экватора клетки (метафазная пластинка или «материнская звезда» классической цитологии). К концу фазы хроматиды сохраняют лишь кажущуюся связь в области центромер (кинетохоры). Их плечи располагаются параллельно друг другу с хорошо различимой щелью между ними. Полимеризация тубулиновых субъединиц дает микротрубочки трех видов (кинетохорные - между центромерами хроматид и диплосом; астральные - от диплосом к плазмолемме; полярные - идут от разнополярных диплосом к центру клетки, где перекрываются, не вступая в прямые контакты. Формирование веретена деления завершается. Специальным образом приготовленные препараты метафазных пластинок цитогенетики используют для исследования кариотипов. В клетках растений в метафазе хромосомы нередко располагаются в экваториальной плоскости без строгого порядка

Окончание табл. 3.1

Анафаза	Наиболее короткая фаза митоза. Дочерние (сестринские) хроматиды в качестве уже самостоятельных хромосом, будучи ориентированными центромерными участками к одному из полюсов, а теломерными (концевыми) - к экватору клетки, перемещаются к клеточным полюсам со скоростью 0,2-0,5 мкм/мин. По завершении движения на полюсах собирается два равноценных набора хромосом («дочерние звезды» классической цитологии), предназначенных для дочерних клеток. Предположительно, анафазные движения хромосом обеспечиваются действием ряда механизмов: разборкой и, следовательно, укорочением кинетохорных микротрубочек веретена деления; удлинением полярных микротрубочек. Если первый механизм способствует приближению расходящихся хромосом к полюсам веретена деления, то второй - расхождению самих полюсов относительно экватора клетки. Не исключено также участие специальных белков-транслокаторов, функции которых - либо содействие перемещению хромосом вдоль кинетохорных микротрубочек, либо «наращивание» полярных микротрубочек
Телофаза	Завершающую фазу митоза нередко делят на раннюю и позднюю. Важнейшее событие ранней телофазы - реконструкция ядер будущих дочерних клеток. Достигшие к концу анафазы клеточных полюсов хромосомы входят в контакт с пузырьками, представляющими собой производные мембран разрушающейся в профазе ядерной оболочки. В стенки пузырьков встраиваются поровые комплексы. Через них внутрь пузырьков поступают белки ядерной ламины, восстановление которой способствует слиянию пузырьков. В результате каждая из хромосом оказывается окруженной как бы собственной оболочкой, по структуре соответствующей ядерной. Описанные образования ранней телофазы получили название мини-ядер или кариомеров. Соответственно наличию в делящейся клетке двух диплосом (полюсов) они формируют две полярных группы, которые и дают в результате слияния образующих эти группы кариомеров дочерние ядра. К важным событиям телофазы относятся также деспирализация (де-конденсация) хромосом, начало восстановления ядрышка, разрушение веретена деления. Главное событие поздней телофазы заключается в разделении тела материнской клетки (цитотомия, цитокинез). В клетках животных это происходит путем образования в экваториальной области перетяжки. Движущей структурой является актин-миозиновое кольцо, основу которого составляет механохимическая система, сходная по своему макромолекулярному оформлению с той, которая функционирует в скелетной мышце. В клетках растений с их ригидными (неподатливыми) клеточными стенками деление материнской клетки на две происходит путем построения перегородки

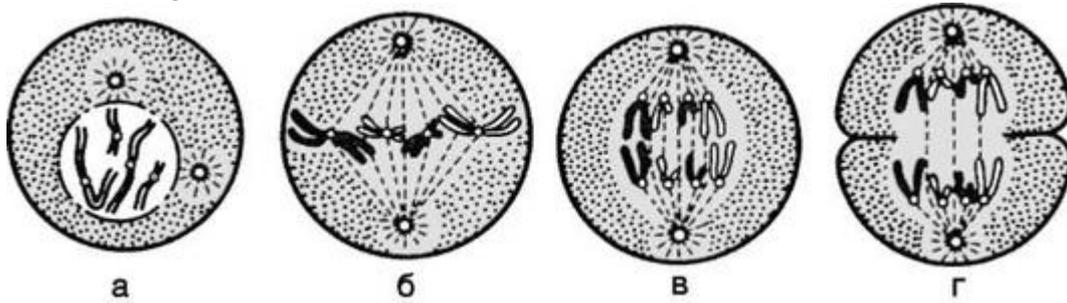


Рис. 3.3. Митоз в животной клетке: а - профаза; б - метафаза; в - анафаза; г - телофаза

Продолжительность митотического цикла варьирует и для большинства животных клеток укладывается в диапазон от 10 до 50 ч. У млекопитающих время непосредственно митоза составляет 0,5-1,5 ч, пост(после)митотического периода интерфазы - 9 ч, синтетического периода - 6-10 ч, предмитотического периода - 2-5 ч. При этом не учитывается время возможного пребывания клеток в периоде(ах) покоя. Время отдельных периодов интерфазы митотического цикла может выходить за указанные пределы. Так, в мужском гаметогенезе в пред-мейотических сперматогониях млекопитающих синтетический период занимает 15 ч, а в мейотических сперматоцитах - порядка 100 ч.

Известны типичные отклонения в ходе той или иной фазы митоза. В некоторой своей части эти отклонения приводят к патологическим последствиям. Отклонения в процессе спирализации (конденсации) хромосом в профазе нередко дают их набухание и слипание, что блокирует переход к следующим фазам. Может произойти отрыв участка хромосомы, который, если он лишен центромеры, выпадает из анафаз-ного движения к полюсам клетки и теряется. В генетике это оценивается как хромосомная мутация - делеция. Если оплодотворение прошло с участием половой клетки, несущей делетированную хромосому, это скажется на развитии организма потомка, причем в неблагоприятном отношении вплоть до его гибели. Отставать в движении могут отдельные хроматиды (дочерние хромосомы), из-за чего образуются клетки с несбалансированными хромосомными наборами. Генетиками это квалифицируется как геномная мутация - анеуплоидия. Повреждения со стороны веретена деления resultируются в задержке митоза в метафазе, нарушениях структуры метафазной пластинки и «рассеивании» хромосом. При изменении количества центриолей возникают патологические по своим последствиям многополюсные и асимметричные митозы.

3.1.2. КОНТРОЛЬ КОЛИЧЕСТВА КЛЕТОК В МНОГОКЛЕТОЧНОМ ОРГАНИЗМЕ. АПОПТОЗ. КЛЕТОЧНЫЙ НЕКРОЗ

Возникновение в эволюции многоклеточных живых форм породило ряд специфических задач. Учитывая требование дискретности (см. п. 1.3), одна из таких задач - ограничение количества клеток, строящих организм. Действительно, размеры ныне существующих животных, например млекопитающих, укладываются в определенный диапазон (сравни: мышь и слон). В эволюции одного и того же вида нередко наблюдается дивергенция по такому признаку, как размеры тела. Так, когда-то существовали карликовые слоны. Известны популяции людей, представители которых отличаются в среднем большим (отдельные группы аборигенов-негров к северу от границы тропических лесов - племя Масаи, полинезийцы Маркизских островов, шотландцы) или меньшим (пигмеи Центральной Африки и Юго-Восточной Азии, бушмены Южной Африки) ростом. Важным представляется то, что тело многоклеточного живого существа образовано определенным числом необходимых для обеспечения жизнедеятельности типов специализированных (дифференцированных) клеток. У человека, в организме которого насчитывается 10^{13} - 10^{14} клеток, этих типов 220-250. Количество клеточных элементов каждого

типа, хоть и варьирует, ограничено определенным пределом. Есть данные о том, что клеточные типы, связанные функционально, находятся в закономерных количественных отношениях. Контроль количества соматических (телесных) клеток в организме в целом и числа клеток определенных типов специализации осуществляется, с одной стороны, на уровне пролиферации, а с другой, - благодаря механизму генетически контролируемой клеточной гибели (апоптоз). В тканях и органах, в которых клеточный состав обновляется на протяжении всей жизни особи, обычно сохраняются так называемые **камбиальные (матричные) зоны** с пролиферирующими клетками-предшественницами клеток конкретных типов специализации. В отношении эпителиальных клеток выстилки тонкой кишки - это «дно» крипт, эпидермиса кожи - базальный слой клеток эпителиального пласта, клеток периферической крови (эритроциты, лейкоциты) - красный костный мозг. Согласно современной номенклатуре, клетки камбиальных зон причисляют к **региональным** или **резидентным** (в отличие от эмбриональных, отличающихся тотипотентностью; по мнению ряда исследователей, оставляющих свойство тотипотентности исключительно за зиготой, ЭСК внутренней клеточной массы характеризуются мульти(плюри)потентностью) **стволовым клеткам**, характеризующимся полипотентностью (кроветворные стволовые клетки дают достаточно широкий набор специализированных клеточных типов периферической крови), олигопотентностью (клетки придонных зон крипт дают ограниченное число специализированных клеток эпителия кишки - предположительно «каемчатый» всасывающий эпителий и некоторые, но не все типы одноклеточных желез) и даже унипотентностью (клетки базального слоя эпидермиса дают через ряд переходных форм только роговые чешуйки).

Клеточная пролиферация как фактор регуляции количества клеток находится под генетическим контролем. Так, у плодовой мухи (дрозофила) имеется мутация, для которой характерно увеличение числа клеточных делений в развитии на одно. Фенотипически мутация проявляется в увеличении в два раза размеров тела в связи с удвоенным количеством соматических клеток.

Наряду с клеточной пролиферацией, количество клеток в структурах тела животного определяется интенсивностью и временными (например, относительно периода онтогенеза или функционального состояния) характеристиками их гибели.

Долгое время науке был известен один вид гибели клеток в многоклеточном организме - **клеточный некроз** (см. здесь же, ниже), случающийся в ответ на действие неблагоприятных факторов. Последняя четверть XX в. ознаменована открытием и активным изучением еще одного вида гибели клеток - **апоптоза**, происходящего вне прямой связи с действием на клетки повреждающих агентов.

В отличие от некроза, апоптоз - это генетически контролируемый вид клеточной гибели и в качестве такового он является эволюционно «проработанным» клеточным механизмом развития и жизнедеятельности многоклеточных живых существ (как клеточная пролиферация или дифференцировка) (см. также раздел 8.2.4). Описано немало процессов и состояний в эмбриогенезе и во взрослом организме, в которых принимает участие апоптоз. Так, будучи закономерными событиями, резорбция хвоста у головастика и жабр у тритона при метаморфозе амфибий, отмирание клеток вольфовых или мюллеровых протоков при формировании мочеполовой системы соответственно у самок и самцов, определение финальной численности нервных клеток ядер головного мозга или приобретение требуемой формы, например бедренной костью путем удаления клеток в соответствующих зонах «заготовки-болванки» (скульптурная функция) во внутриутробном развитии млекопитающих и многое другое, обеспечиваются апоптозом. Во взрослом состоянии у женщин путем апоптоза после овуляции в яичниках погибают фолликулярные клетки, а по окончании лактации - клетки молочных желез.

Источник KingMed.info

В эксперименте удаление семенников (кастрация) приводит к апопто-тической гибели клеток предстательной железы, а удаление гипофиза вызывает гибель клеток надпочечников.

Многообразие ситуаций с участием апоптоза, их неслучайность, принадлежность апоптоза к естественным клеточным механизмам развития и жизнедеятельности ставят вопрос о природе сигналов, запускающих этот вид гибели клеток. Некоторые из приведенных выше примеров (молочные железы после лактации, кастрация, резорбция хвоста головастика) говорят о том, что в ситуациях, связанных с индивидуальным развитием и жизнедеятельностью, эти сигналы нередко имеют гормональную природу, а апоптоз является реакцией на изменение гормонального статуса организма. В случае молочных желез или простаты - это падение уровня соответственно прогестерона или андрогенов. При резорбции хвоста головастика в метаморфозе речь идет о тироксине.

Апоптоз происходит при недостатке регуляторных молекул, необходимых для жизнедеятельности клеток определенного типа. Так, при отсутствии фактора роста нервов (англ. *NGF - Nerve Growth Factor*) нервные клетки в условиях *in vitro* (в культуре клеток, вне организма) гибнут апоптозом. Другие регуляторные молекулы, например, фактор некроза опухолей, ФНО (англ. *TNF - Tumor Necrosis Factor*), вызывают апоптотическую гибель разных типов клеток. Сигналом к апоптозу может стать нарушение клеточного метаболизма вследствие действия экзогенных токсинов.

Цитогенетическая система, обуславливающая развитие апоптоза, сходна у представителей разных таксонов, в том числе далеко отстоящих друг от друга в эволюционном плане, например, у круглого червя *C. elegans* и позвоночных животных. Ее начальный отрезок представлен регулятором, адаптером и эффектором. У позвоночных функцию регулятора выполняет белок *bcl-2*, который ингибирует адаптерный белок *Araf-1*, стимулирующий ферменты каспазы. Каспазы, выполняющие роль эффекторов, - это протеиназы, расщепляющие молекулы разных белков (у позвоночных таких белков-мишеней более 60).

Представление о процессе апоптоза дает схема на рис. 3.4. При наличии соответствующего трофического фактора в цитоплазме присутствует фосфорилированный и в таком состоянии неактивный белок *Vad-P*. При отсутствии трофического фактора названный белок дефосфорилируется и превращается в активную форму - *Vad*. Последний, связываясь с регуляторным белком наружной митохондриальной мембраны *bcl-2*, лишает его антиапоптозных свойств, что переводит в активное состояние проапоптотический белок *Bax*. В таких условиях в митохондрию через открывшиеся ионные каналы устремляется поток ионов, а из органеллы в цитозоль выходит фермент цитохром С. Комплекс названного фермента и адапторного белка *Araf-1* переводит прокаспазу 9 в активную форму. Каспаза 9, в свою очередь, активирует каспазу 3, которая, проявляя свойства протеазы, вызывает деградацию белков, в частности адгезивных, что способствует обособлению апоптозирующей клетки от соседних, а также приводит к конденсации и распаду хроматина, цитоскелетных структур и ядерной ламины. Перечисленные изменения означают, что судьба клетки predetermined, и она вступила на путь апоптоза. В результате внутриклеточных изменений деструктивного характера клетка распадается на фрагменты - апоптотические тельца, которые «опознаются», захватываются и перевариваются макрофагами. При этом макрофаги не реагируют на находящиеся в непосредственной близости, но не апоптозирующие клетки.

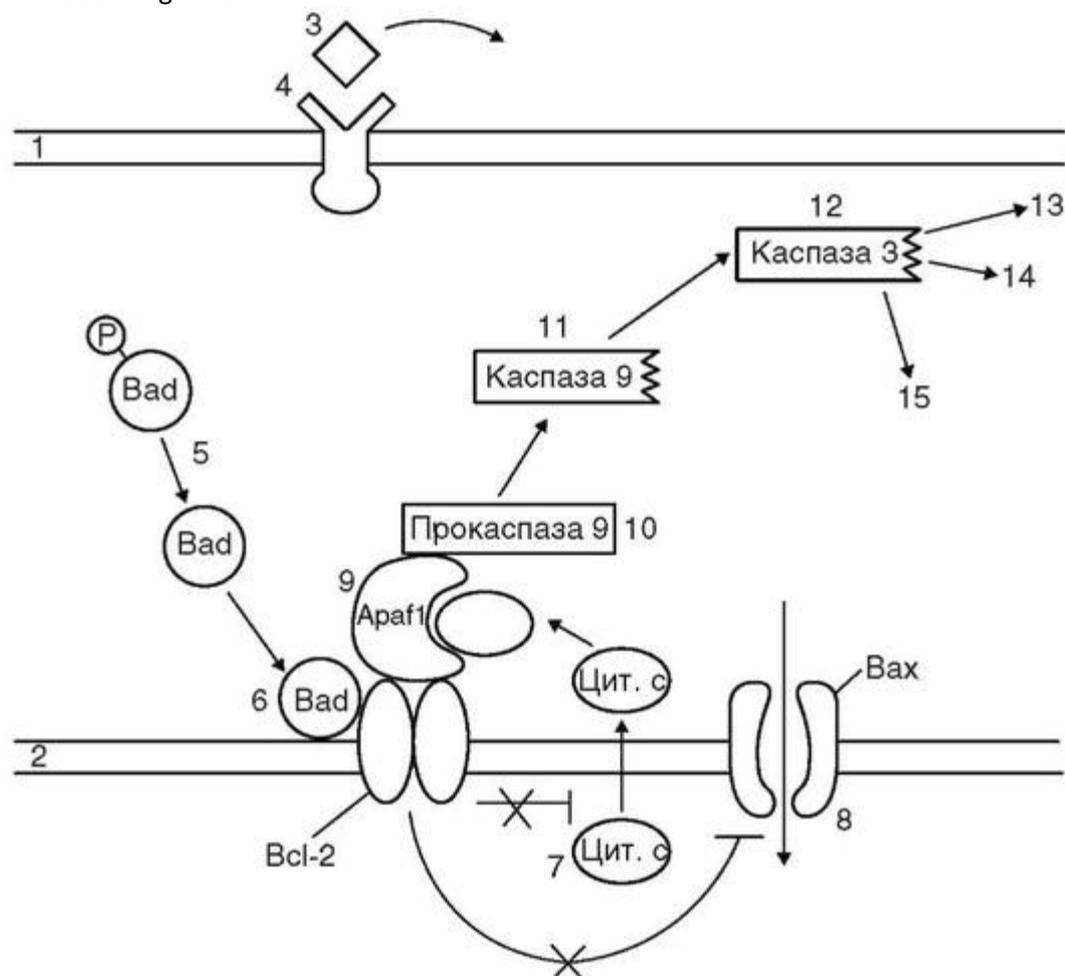


Рис. 3.4. Вариант развития апоптоза: запускающий фактор - отсутствие жизненно важного трофического фактора (схема): 1 - плазматическая мембрана; 2 - наружная мембрана митохондрии; 3 - трофический фактор; 4 - рецептор трофического фактора; 5 - дефосфорилирование проапоптотического белка *Bad*; 6 - инактивация антиапоптотического белка *Bcl-2*; 7 - выход цитохрома С из митохондрии в цитозоль; 8 - активация проапоптотического белка *Bax*, открытие ионных каналов; 9 - цитохром С активирует адапторный белок *Apaf-1*; 10 - активация прокаспазы 9; 11 - активная каспаза 9; 12 - активация каспазы 3; 13-15 - разрушение ядерной ламины (плотная пластинка, см. п. 2.4.3.1), цитоскелетных структур, конденсация и фрагментация хроматина

К апоптотической гибели приводят не только внешние относительно клеток (изменение гормонального статуса, недостаток в организме жизненно важного ростового фактора), но и внутриклеточные события, в частности нерепарируемые нарушения химической структуры ДНК (см. п. 2.4.5.3-а), дающие генетически (биоинформационно) дефектные и, следовательно, балластные или угрожающие здоровью и даже жизни клетки (приводящие благодаря генетическим или биоинформационным нарушениям к функционально дефектным состояниям, угрожающим здоровью и даже жизни клетки). В таких случаях начальная фаза процесса заключается в накоплении в цитоплазме транскрипционного фактора *p53*, что активирует белок *p21*. Последний, с одной стороны, блокирует вступление клетки в период *S* (G_1 -блок митотического цикла) интерфазы или в митоз (G_2 -блок митотического цикла), тогда как с другой, - активирует проапоптотический белок *Bax* (см. здесь же, выше и рис. 3.4). Далее события развиваются в соответствии с представленным на рис. 3.4 сценарием. Внутриклеточным по своему происхождению событием, запускающим апоптоз, является деструктивное действие

активных форм кислорода (АФК, свободные радикалы - см. п. 2.4.8) на митохондриях. Следствием нарушения структуры названных органелл является выход в цитозоль цитохрома С, его комплексообразование с *Araf-1*, перевод прокаспазы 9 в каспазу 9 и т.д. (см. рис. 3.4). Можно заключить, что существуют варианты апоптоза, различающиеся природой инициирующего сигнала и событиями в дебюте процесса.

На рисунке 3.5 в схематическом изображении представлены гибель клетки, с одной стороны, путем апоптоза, а с другой, путем некроза. Очевидно, что это два отдельных процесса. Во-первых, они различаются по морфологии, во-вторых, по запускающим их факторам. К клеточному некрозу приводят повреждения мембраны плазмолеммы и подавление активности мембранных ионных насосов токсинами, недостаток кислорода, например, вследствие ишемизации тканей при спазме

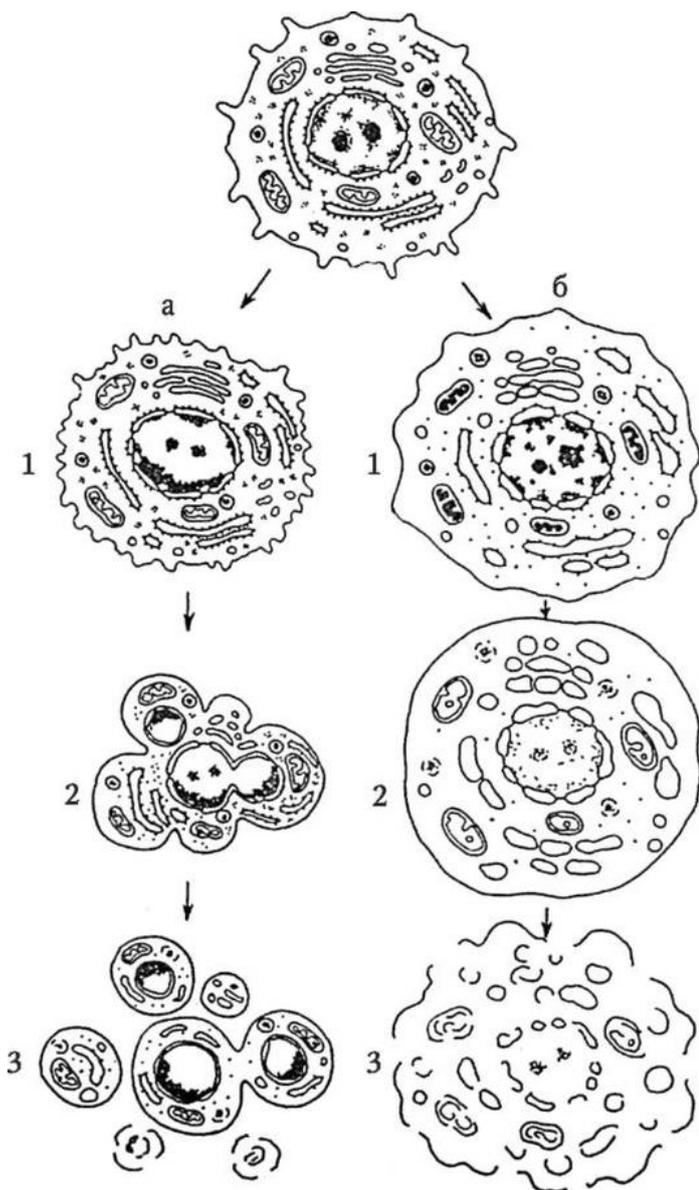


Рис. 3.5. Апоптоз и клеточный некроз - сравнительная характеристика морфологии процессов (схема): а - апоптоз: 1 - специфическое сжатие клетки и конденсация хроматина; 2 - фрагментация ядра; 3 - фрагментация тела клетки с образованием апоптотических телец; б - некроз: 1 - набухание вакуолярных структур и клетки в целом, компактизация хроматина, кариопикноз и кариорексис; 2 - дальнейшее набухание мембранных органелл, кариолизис; 3 - разрушение мембранных структур, клеточный лизис

Источник KingMed.info

или закупорке кровеносных сосудов (инфаркт миокарда, ишемический инсульт мозга), выключение из функции митохондриальных ферментов в результате действия некоторых ядов (цианиды). Обычно клеточный некроз развивается по следующему сценарию. Повышается проницаемость цитоплазматической мембраны, происходит обводнение цитоплазмы, что приводит к набуханию клетки. Одновременно набухают вакуолярные цитоплазматические структуры с деструкцией мембран. Необратимо изменяются митохондрии, прекращается продукция энергии, что тут же сказывается на состоянии клеточных функций, которые блокируются. Благодаря повышению концентрации ионов Na^+ и Ca^{++} цитоплазма закисляется, жизненно важные синтезы, в частности белковые, прекращаются, из лизосом высвобождаются ферменты кислые гидролазы (см. п. 2.4.4.4-в), происходит лизис клетки. Одновременно хроматин ядер компактизируется (кариопикноз) с последующим распадом (кариорексис), происходят разрывы ядерной оболочки с последующим исчезновением ядра (кариолизис). В отличие от апоптоза, при котором клеточная гибель носит автономный характер и не распространяется на клетки, соседствующие с апоптозирующей, при клеточном некрозе в процесс вовлекаются объемные участки тканей и органов, т.е. сразу некоторое количество клеток. В зоне некроза развивается воспаление, и некротизированный участок буквально «наводняется» (инфильтрируется) лейкоцитами. Этого не происходит в случае апоптоза. Можно заключить, что генетически контролируемая клеточная гибель путем апоптоза, в отличие от клеточного некроза, не носит характера патологического процесса и по своим параметрам удовлетворяет статусу одного из базисных клеточных механизмов развития и жизнедеятельности многоклеточного организма.

3.1.3. КЛЕТОЧНАЯ ДИФФЕРЕНЦИРОВКА

Дифференцировка - это процесс, в результате которого клетки становятся специализированными, т.е. приобретают морфологические, цитохимические, а главное - функциональные особенности, соответствующие запросам многоклеточного организма (см. также разделы 8.2.5, 8.2.5.1, 8.2.5.2 и 8.2.6). В широком смысле под дифференцировкой понимают постепенное, наблюдаемое, в частности, в **процессе эмбриогенеза** через ряд последовательных делений и смену положения в теле развивающегося организма, появление все больших различий между клетками, происходящими из относительно однородных кле-

ток конкретного эмбрионального зачатка (например, зародышевого листка - энто-, эктоили мезодермы). Специализированные в заданном структурно-функциональном направлении клетки возникают и **во взрослом организме**, замещая, к примеру, постоянно гибнущие клетки - **физиологическая регенерация**.

Процесс клеточной дифференцировки как в эмбриогенезе, так и во взрослом состоянии «растянут» во времени, распространяется на группы клеток и определяется понятием **гистогенез**. Гистогенез начинается со стволовых (у взрослого, региональные стволовые, см. п. 3.1.2) клеток, включает несколько митотических делений, дающих ряд закономерных промежуточных клеточных форм, и завершается возникновением дифференцированных клеток. Появление отдельных морфологических, цитохимических, метаболических и иных характеристик дифференцированного состояния в ходе гистогенеза может происходить независимо и приурочено, как правило, к конкретным промежуточным клеточным формам. Вся совокупность соответствующих характеристик выявляется в дифференцированной зрелой клетке, составляя ее **цитофенотип**. Предположительно такое появление говорит о смене одних генов, активно транскрибируемых на предшествующей стадии гистогенеза, на другие.

Клеточные формы, с которых начинается гистогенез, обычно лишены признаков специализации. Тем не менее в нормальных условиях развития и жизнедеятельности организма направление дифференцировки определено. Известно, например, что клетки дерматома, склеротома и миотома, на которые подразделяются мезодермальные сомиты, в дальнейшем развитии дифференцируются соответственно в фибробласты соединительной ткани собственно кожи (дермы), хондробласты хряща и миобласты скелетной мускулатуры. В этих случаях говорят о состоянии **детерминации**. Конкретные факторы и механизмы клеточной детерминации однозначно не определены. Предположительно речь идет об активном состоянии определенных генов и экспрессии клетками соответствующих белков. Свою роль, видимо, играют характер дистантных (действующих на расстоянии) и местных (локальных) межклеточных взаимодействий и положение клеток в организме, органе или клеточной тканевой системе (см. п. 3.2) - морфогенетические поля: клеточные контакты с другими структурами, например клеток базального слоя эпидермиса с базальной мембраной, особенности микроокружения по маршруту перемещения клеток-предшественниц в процессе их превращения в «каемчатые» или железистые дифференцированные эпителиальные клетки выстилки тонкой кишки из придонных участков крипт на ворсинку - все то, что объединяется понятием **эпигенетический ландшафт**.

Представления о механизмах цитодифференцировки имеют свою историю (рис. 3.6). Гипотезы, связывающие клеточную дифференцировку с неравнозначностью наследственного материала в разных типах клеток (А. Вейсман), имеют историческое значение. К настоящему времени собрано много доказательств того, что соматические клетки подавляющего большинства животных, в том числе высокоорганизованных, характеризуются неизменным диплоидным набором хромосом. Цитофотометрические исследования показали, что количество ДНК в ядрах клеток разных тканей и органов не различается. Оно одинаково и, как правило, соответствует диплоидному (2с). Результаты, полученные методом молекулярной гибридизации (см. п. 5.2.2.3-6), свидетельствуют об отсутствии различий в нуклеотидных последовательностях ДНК клеток разных направлений



Рис. 3.6. Развитие представлений о механизмах цитодифференцировки

Источник KingMed.info

специализации. О сохранении соматическими клетками функционально-генетического потенциала говорят успешные опыты по репродуктивному клонированию организмов (см. п. 3.1.1).

Современная биология связывает генетический механизм клеточной дифференцировки с явлением **дифференциальной (избирательной) активности генов**. Различия между характеристиками соматических клеток разных направлений структурно-функциональной специализации (дифференцировки) видят в том, что в различных типах клеток активны (транскрибируются) разные гены и, соответственно, экспрессируются (транслируются) разные белки. Естественно, что выше речь шла о белках, относящихся к семейству «белков роскоши», а не о белках «домашнего хозяйства» (см. п. 2.4.4.4-е). К дифференцированным клеткам относятся, в частности, эритроциты. Хотя в зрелых эритроцитах белковые синтезы сведены к нулю, в клетках-предшественницах эритроцитов (полихроматофильные и базофильные, в терминологии классической гистологии - эритробласты, ретикулоциты) активны гены, обуславливающие экспрессию полипептидов гемоглобина - α - и β -глобинов. Пример с глобинами показателен тем, что эти гены имеют кластерную организацию, т.е. представлены совокупностью генов, каждый из которых активен в строго определенный период онтогенеза. Так, β -глобиновый кластер (β -мультигенное семейство) человека представлен 7 генами. У эмбрионов активен ген ϵ , у плода - ζ и γ (Джи-гамма и Эй-гамма), после рождения - δ и β . Кроме того, имеется два так называемых псевдогена. Активация очередного гена кластера сопряжена с инактивацией гена, который транскрибировался в предшествующий период онтогенеза. Предположительно смена активных β -глобиновых генов оптимизирует функцию транспорта кислорода в различных условиях существования организма человека (эмбрион - доплацентарный период внутриутробного развития, плод - плацентарный период, после рождения - дыхание атмосферным воздухом).

Важное место в процессе клеточной дифференцировки принадлежит экспрессии белков цитоскелетных структур и плазмолеммы. Наличие цитоскелета - непереносимое условие приобретения и поддержания дифференцированной клеткой требуемой формы, а в случае необходимости - полярности (всасывающий «каемчатый» эпителий кишки), построения таких структур, как микроворсинки (всасывающий эпителий тонкой кишки) или реснички (реснитчатый эпителий трахеи и крупных бронхов). В случае плазмолеммы речь идет, в частности, о рецепторных и других белках (см. п. 2.4.2).

Самостоятельное значение в плане выполнения дифференцированной клеткой специфических функций имеет закономерное распределение белков и структур в клеточном объеме. Так, микроворсинки и реснички, о которых шла речь выше, располагаются на обращенных в просвет соответствующих органов полюсах клеток. Показателен пример эпителиально-мышечной клетки актинии, выполняющей одновременно опорную, сократительную и чувствующую (рецепторную) функции. Названная клетка имеет бокаловидную форму, в ее основании находится пучок миофибрилл, а у апикальной поверхности - чувствующий волосок (рис. 3.7).

Показано расстояние (в п.н.) энхансеров, ответственных за транскрипцию гена клетками разных органов мухи, от стартовой точки трансляции

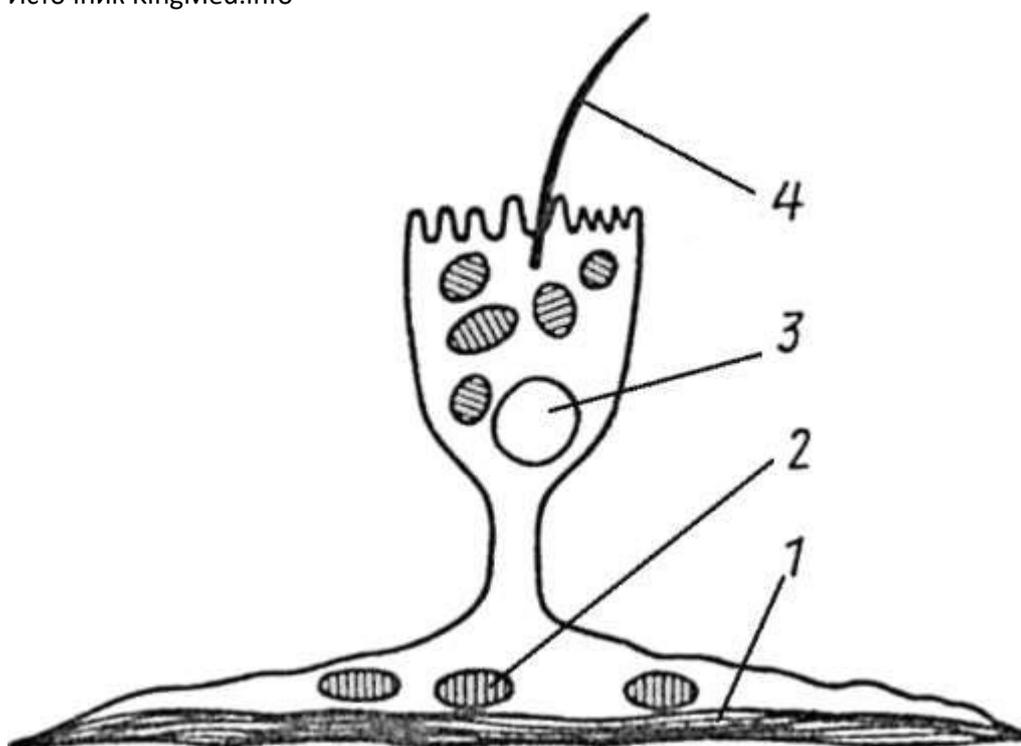


Рис. 3.7. Эпителиально-мышечная клетка актинии. Схема: 1 - мышечные волокна; 2 - митохондрии; 3 - ядро; 4 - чувствующий волосок



Рис. 3.8. Регуляторная зона тканеспецифичного гена *estS* (фермент эстераза) плодовой мухи.

В связи с проблемой клеточной дифференцировки важным представляется вопрос о механизме избирательной активности конкретного гена (и следовательно, экспрессии соответствующего белка) клетками разных органов. Имеющиеся данные указывают на несомненную роль энхансеров (рис. 3.8), промоторов, транскрипционных факторов, гормонов, факторов роста и других сигнальных молекул, изменение плотности упаковки хроматина - гетерохроматизация эухроматиновых участков и эухроматизация гетерохроматиновых.

3.1.4. ОНКОТРАНСФОРМАЦИЯ КАК ОДНА ИЗ ВОЗМОЖНЫХ СОСТАВЛЯЮЩИХ ЖИЗНЕННОГО ЦИКЛА КЛЕТКИ

Идея о том, что опухолевый рост представляет собой биологическую проблему, возникла давно. В разное время эта идея наполнялась различным конкретным содержанием. В частности, высказывались предположения, что рак - это следствие депрессии клеточного генома в связи с потерей хромосомами гистонов, а онкогенез, как явление, можно рассматривать в качестве побочного эффекта «противостояния» клеток процессу старения. В настоящее время распространение получила точка зрения, также связывающая онкотрансформацию с изменениями клеточного генома. Предположительно путь к опухолевому перерождению клетки представляет собой перестройку генома, а не единичную мутацию определенного гена. Действительно, описаны опухоли, удовлетворяющие понятию «моногенная наследственная

Источник KingMed.info

болезнь», например ретинобластома (*retina*: средневеков. от лат.: *rete* - сеть, самая внутренняя оболочка глаза; греч. *blastos* - почка, росток, побег, завязь; греч. *ōma* - опухоль). Это злокачественное новообразование сетчатки с аутосомно-доминантным типом наследования. К развитию ретино-бластомы приводят точковые мутации в гене *RB1* (*13q14.1*). С другой стороны, названная опухоль развивается при транслокациях между хромосомами X и 13, причем место разрыва приходится на участок хромосомы 13, не имеющий отношения к месту расположения названного гена, а находящийся от него за несколько миллионов пар нуклеотидов - *13q12-q13*. При этом допускается, что в случае транслокаций речь тоже идет об инактивации гена *RB1*, но не вследствие его мутации, а в результате разобщения областей промотора и энхансера, т.е. фактически эффекта положения.

Рассмотренный пример возвращает нас к идее, что онкотрансформация как самостоятельная траектория жизненного цикла соматической клетки связана с изменениями в геноме, причем затрагивающими конкретные системы генетической регуляции состояния клеток, в частности, связанные с их пролиферацией. Подсчитано, что к онкогенезу у человека из общего числа примерно в 30 тыс. имеют отношение 120-150 генов. Далеко не все они являются структурными (кодирующими аминокислотные последовательности полипептидов) в понимании классической генетики. Многие из них выполняют регуляторные, сервисные и/или конценсусные функции. Факторами, провоцирующими превращение клеток в опухолевые, являются **мутагены окружающей среды**, такие, как промышленные и сельскохозяйственные яды, табачный дым.

Согласно современным взглядам, онкогенез - многоступенчатый процесс. Единичной мутации в протоонкогене или гене-супрессоре онкотрансформации достаточно для инициации клеточного роста, который через ряд стадий, связанных с закономерными изменениями в геномах клеток растущей популяции, может приобрести черты злокачественного (рис. 3.9).

Таким образом, в случае клеточной онкотрансформации речь идет о геномных изменениях, затрагивающих генетические системы регуляции существенных составляющих клеточного цикла, прежде всего процессов пролиферации и апоптоза. Это дает основание рассматривать онкогенез, воспринимаемый как биологический в своей основе феномен, в связи с организацией жизненного цикла эукариотической клетки многоклеточного организма. Дополнительный аргумент заключается в том, что, согласно новейшим данным, опухолевые клетки постоянно циркулируют в кровотоке, причем если их количество не превышает 0,5 млн, то ситуация оценивается как **онкологически спокойная**. При количестве клеток в диапазоне от 0,5 млн до 1 трлн ситуация оценивается как настораживающая - **предрак**. На обеих названных стадиях какие-либо признаки наличия злокачественной опухоли в организме существующими диагностическими методами не выявляются. **Опухоль** диагностируется и становится предметом профессионального внимания врачей, если количество клеток превышает 1 трлн.

3.2. клеточные тканевые системы (клеточные популяции). регенеративная медицина

Тело взрослого человека образовано 220-250 типами дифференцированных клеток, каждый из которых соответствует конкретному направлению функциональной специализации (**цитотип, цитофенотип**). Отдельные клеточные типы закономерно (по набору и количеству) представлены в различных органах и структурах организма. В гистологии сложилось представление о **клеточной популяции**, к которой относят совокупность клеток одного цитотипа (гепатоциты или печеночные клетки, кардиомиоциты, нервные клетки с подразделением по

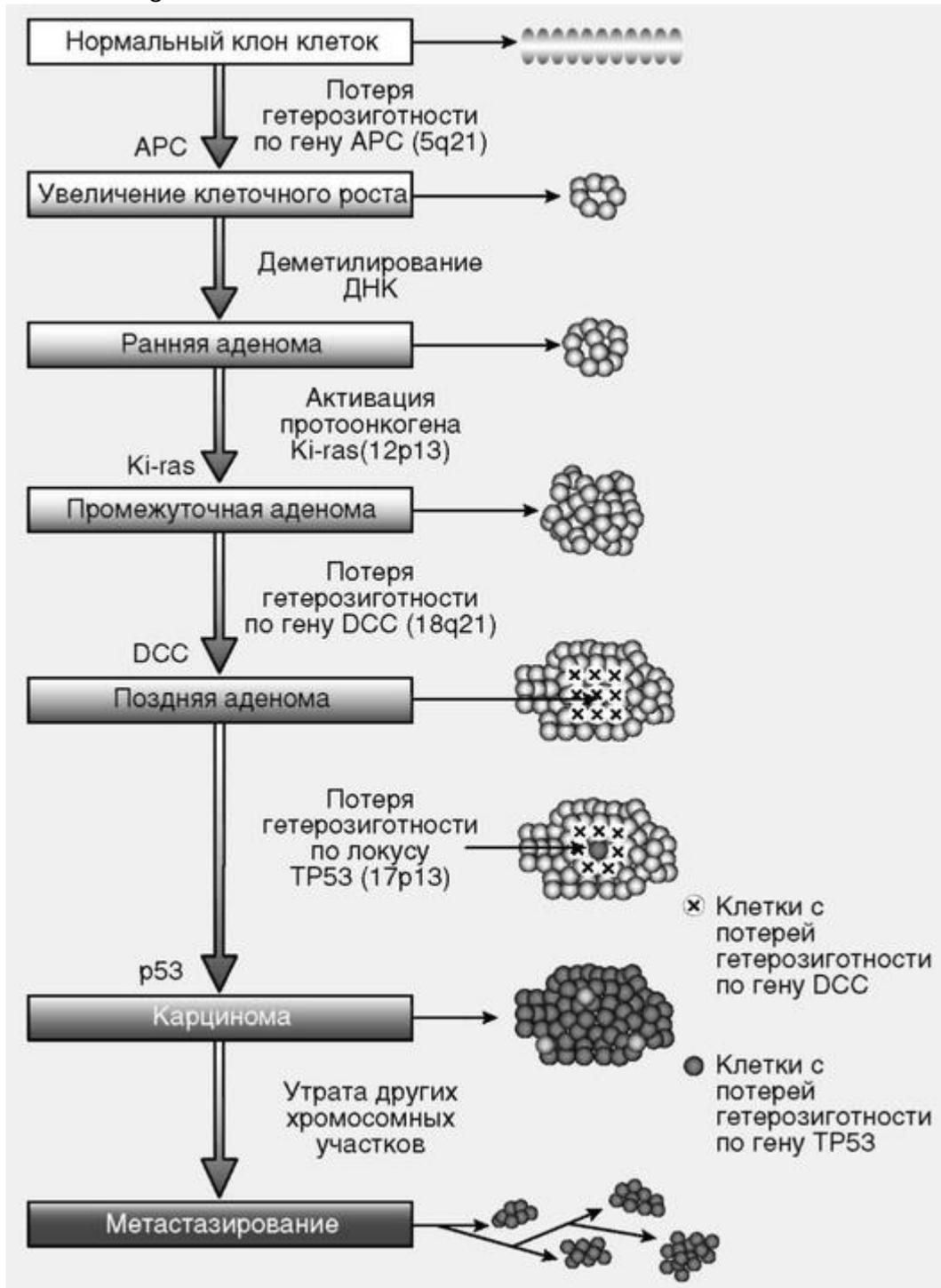


Рис. 3.9. Многоступенчатый характер процесса онкогенеза (на примере рака прямой кишки)

вариантам или **субпопуляциям** - нейроны Пуркинью коры мозжечка, пирамидные нейроны коры головного мозга). Введение указанного понятия, с одной стороны, создает перспективу оценить суммарный функциональный потенциал организма по отдельным направлениям клеточной специализации. С другой стороны, осознаются подходы к решению вопроса о путях поддержания требуемого уровня этого потенциала во времени - путем клеточной пролиферации или другими способами (клеточная гипертрофия, внутриклеточная регенерация). Классифицируя клеточные популяции, классическая гистология в качестве ведущего, практически исключительного критерия использует сохранение клетками пролиферативного потенциала - в прямом виде (гепатоциты) или благодаря наличию матричных (камбиальных) пролиферативных зон (клетки периферической крови, эпидермис кожи). Соответственно классификация вариантов

клеточных популяций в многоклеточном организме строится на оценке баланса между темпами потери и восполнения клеточного материала за счет митотического деления. Так, выделяются популяции **обновляющиеся** (клетки эпителиальной выстилки тонкой кишки, соединительной ткани), **растущие** (гепатоциты), **стабильные** (нейроны, кардиомиоциты). Возможные варианты клеточных популяций, если исходить из названного выше критерия, приведены на рис. 3.10.

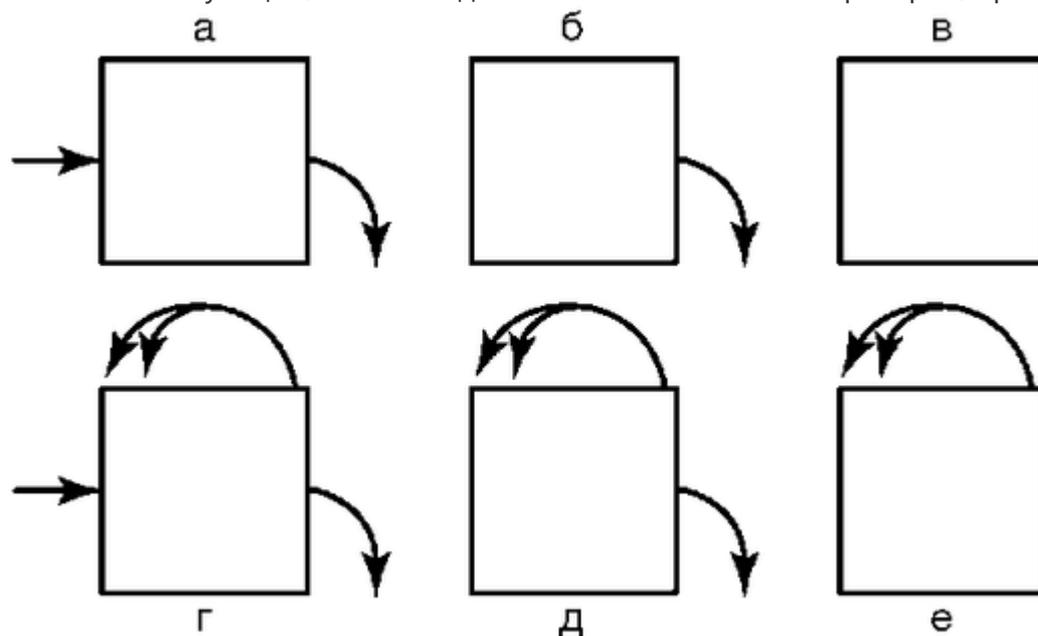


Рис. 3.10. Возможные типы клеточных популяций (схема): а - простая транзитная; б - распадающаяся; в - статичная закрытая; г - делящаяся транзитная; д - стволовых клеток; з - делящаяся закрытая. Стрелки - поступление клеток в популяцию, выход из нее и деление клеток внутри популяции (двойные стрелки)

Согласно современным представлениям источником, из которого образуются все дифференцированные клетки, являются **стволовые (прогениторные) клетки**, а процесс, благодаря которому в индивидуальном развитии и/или при регенерации органов и тканей в организме появляются клетки требуемых цитотипов, носит название **гистогенеза** (см. п. 3.1.3).

Стволовые клетки отличаются рядом особенностей. Во-первых, они составляют в организме самоподдерживающуюся популяцию в том смысле, что определенное их количество восстанавливается путем деления, если часть клеток покидают популяцию, встав на путь клеточной дифференцировки. Предполагается, однако, что по мере увеличения возраста особи численность указанных популяций (имеются в виду, прежде всего, популяции региональных резидентных стволовых клеток) сокращается. Во-вторых, стволовые клетки способны к так называемому асимметричному митотическому делению, когда одна из образующихся дочерних клеток вступает в следующий митотический цикл, способствуя поддержанию количества стволовых клеток, тогда как другая встает на путь дифференцировки. Если обе дочерние клетки, возникшие вследствие деления стволовой клетки, возвращаются в митотический цикл, говорят о симметричном митозе. Природа сигналов и клеточный механизм разграничения симметричного и асимметричного митозов не выяснены.

Прогениторными называются стволовые клетки, вступившие в гистогенез, то есть для которых направление специализации определено (начальное событие клеточной дифференцировки в виде детерминации состоялось): предположительно прогениторными являются региональные или резидентные стволовые клетки. Принято считать, что вероятность онкотрансформации

прогениторных клеток сопоставима с вероятностью онкотрансформации обычных симпатических клеток на завершающей стадии гистогенеза.

С учетом отмеченного, представления о клеточных популяциях трансформируются в представления о **тканевых клеточных системах** (рис. 3.11). Все процессы, ведущие к оформлению (индивидуальное развитие) или к поддержанию и восстановлению (физиологическая и репаративная регенерация) в организме групп клеток определенного цитофенотипа, имеют в своей основе соответствующие гистогенезы. Принципиальная структура гистогенеза показана на рис. 3.12. Место и роль различных клеточных механизмов в гистогенезе отражены в рис. 3.13. Из рисунка 3.12 следует, что гистогенез начинается со стволо-



Рис. 3.11. Тканевая клеточная система (принцип организации)

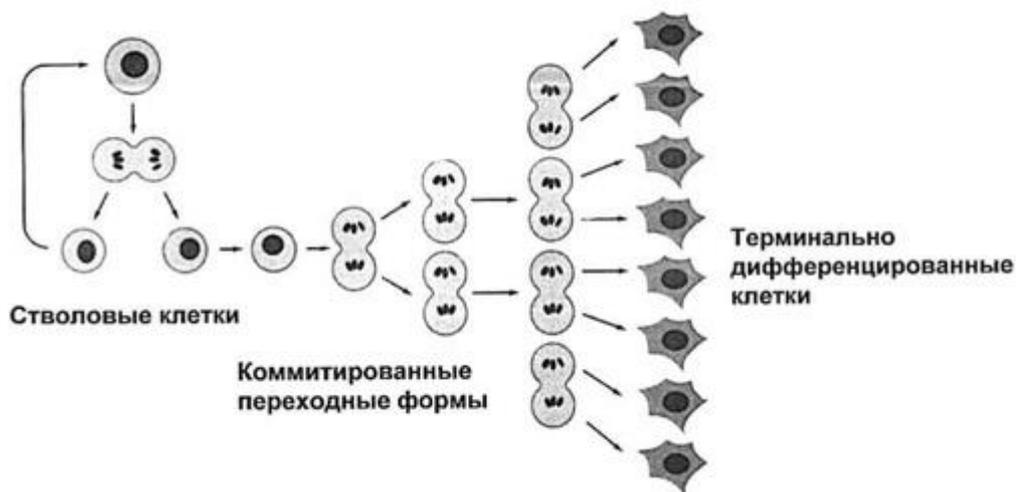


Рис. 3.12. Динамика клеточных форм в гистогенезе

вой (эмбриогенез) или прогениторной (родившийся человек, возможно плод на стадии органогенезов) клетки.

ПРИРОДНЫЕ ТКАНЕВЫЕ КЛЕТОЧНЫЕ СИСТЕМЫ — ЭЛЕМЕНТАРНЫЕ КЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ГИСТОГЕНЕЗОВ

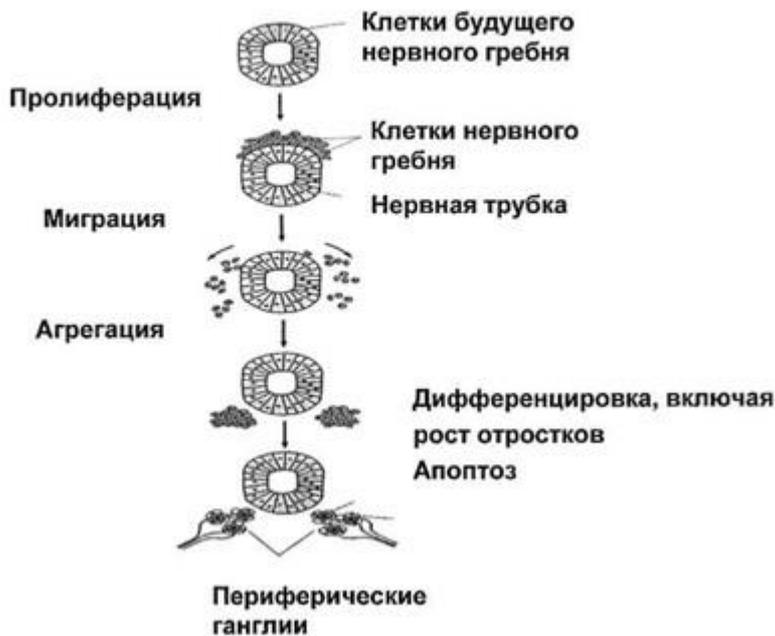


Рис. 3.13. Динамика клеточных форм в тканевых системах

Данные по биологии стволовых и прогениторных клеток-предшественниц дифференцированных клеток различных цитотипов (цитофено-типов) служат основой для разработки терапевтических биомедицинских клеточных технологий нового поколения, относящихся к формирующемуся разделу практического здравоохранения - **регенеративной медицине**.

Вопросы для самоконтроля

1. Что такое жизненный и митотический циклы клетки?
2. Какие процессы реализуются в различных фазах митотического цикла, и как осуществляется его регуляция?
3. Что представляет собой апоптоз и в чем его значение для организма?
4. В чем суть клеточной дифференцировки?

Раздел III. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ УРОВЕНЬ ОРГАНИЗАЦИИ ЖИЗНИ

Глава 4

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ УРОВЕНЬ ОРГАНИЗАЦИИ ЖИЗНИ - РЕАЛИЗАЦИЯ СВОЙСТВ НАСЛЕДСТВЕННОСТИ И ИЗМЕНЧИВОСТИ. СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ КЛЕТОЧНОГО АППАРАТА

НАСЛЕДСТВЕННОСТИ И ИЗМЕНЧИВОСТИ (ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АППАРАТ)

Переход от «преджизни» к жизни связывают с появлением наследственности (см. п. 1.4.4.1). Есть неопровержимые доказательства непротиворечивости наследственности и изменчивости как фундаментальных свойств живых форм. В перечне всеобщих, обусловленных структурой эволюционного процесса, уровней организации земной жизни (см. п. 1.6) **молекулярно-генетический уровень** занимает первую строку. Элементарной структурой на этом уровне является **ген**, определяемый как фрагмент молекулы ДНК, несущий определенный объем биологически целесообразной (полезной для жизнедеятельности, репродукции и индивидуального развития) генетической информации. Элементарное явление на этом уровне состоит в **конвариантной редупликации ДНК**, т. е. в самоудвоении молекул нуклеиновой кислоты путем самокопирования с некоторым количеством ошибок. Такого рода ошибки (генные, истинные мутации) сохраняются в ряду поколений клеток и особей. Кроме генных мутаций, имеются также хромосомные и геномные мутации, к которым, однако, неприложимо определение «истинные». Различия состоят в том, что генные мутации способны производить принципиально новую биологическую информацию, тогда как хромосомные и геномные мутации заключаются либо в изменении количества (дозы) уже имеющейся информации, либо в появлении ее новых комбинаций. Вне явлений наследственности и изменчивости, обуславливающих в своем взаимодействии консерватизм и динамичность структур и функций в мире жизни, реальность появления и сохранения во времени новых адаптаций (приспособлений) и, следовательно, процесс биологической эволюции, невозможны.

4.1. наследственность и изменчивость - фундаментальные свойства живого

Жизнь существует на планете более 3,5 млрд лет, что связано с особенностями ее **временной организации в виде сменяющих друг друга поколений**. Происходит смена органелл (например, митохондрий) в клетках, поколений клеток в многоклеточном организме, смена поколений организмов в популяциях, смена видов в биоценозе, смена биоценозов, образующих биосферу. Сохранение живых форм в меняющихся условиях окружающего мира возможно благодаря их эволюции, в ходе которой у них появляются и закрепляются в потомстве свойства, дающие возможность приспособиться к новой среде обитания. В основе эволюции, в свою очередь, лежит способность живых систем разного уровня к самовоспроизведению с изменениями. Такое самовоспроизведение обеспечено наличием в мире жизни двух универсальных свойств - наследственности и изменчивости.

Свойства наследственности и изменчивости традиционно рассматривают в связи с клеткой или организмом. На клеточном и организменном (онтогенетическом) уровнях организации живого (см. п. 1.6) под **наследственностью** понимают свойство соответственно клеток или организмов в процессе самовоспроизведения **передавать новому поколению способность к определенному типу обмена веществ и развития**. В ходе развития у потомства **формируются общие признаки данного типа клеток или вида организмов, проявляются некоторые индивидуальные особенности родительских форм**. На популяционно-видовом уровне

организации жизни свойство наследственности состоит в **поддержании во времени постоянного состава и соотношения генетических форм** или **гено(аллело)типов в ряду поколений** организмов данной популяции (вида). На биоценотическом уровне длительное существование биоценоза обеспечено **сохранением** определенных **соотношений популяций** (видов) **организмов**. Это предполагает воспроизводство во времени совокупности популяций (видов), присущих конкретному биоценозу, без изменения их **гено(аллело) фондов**.

В процессе исторического развития жизни (эволюции) наследственность, используя механизм репродукции, обеспечивает тиражирование и закрепляет в ряду поколений биологически полезные приобретения (**консерватизм**), что делает ее обязательным фактором эволюции.

Сохранение живых форм во времени на фоне меняющихся условий (в частности, абиотических - смена на планете восстановительной атмосферы на окислительную порядка 1,9 млрд лет назад, перемещение участков земной коры, континентов и субконтинентов со сменой на обширных территориях климата, покровные оледенения и межледниковые периоды) было бы невозможным при отсутствии наработки новой биологической информации. В результате появления новой биоинформации возникают отсутствовавшие ранее структурно-функциональные фенотипические признаки и их комплексы, которые оказываются биологически полезными в новых условиях среды.

Свойство живых форм приобретать **наследуемые изменения**, и, **комбинируя их в потомстве в различных сочетаниях**, существовать в **разных фенотипических вариантах**, что обуславливает их эволюционную и экологическую пластичность, называется **изменчивостью**. Биологическая изменчивость как предпосылка создания, накопления и использования новой биоинформации лежит в основе способности живых форм выживать во времени, несмотря на смену параметров среды (**эволюционная пластичность**) или в один и тот же исторический период заселять территории, различающиеся по комплексу жизненно важных условий (**экологическая пластичность**).

У клеток определенного цитотипа и организмов определенного вида изменчивость, затрагивая процесс развития (гистогенез для клеток, эмбриогенез для организмов с половым размножением), проявляется в **наличии различий между разными клетками одного цитотипа (цитотипа) и особями одного вида**. На популяционно-видовом уровне организации жизни это свойство проявляется в **генетическом разнообразии популяций вида**. На биоценотическом уровне появление новых видов и популяций вносит изменения в **межвидовые отношения в биоценозах**. Изменчивость обуславливает появление и использование новой биологической информации (**динамизм**), что создает почву для функционирования механизма естественного отбора. Это делает изменчивость, наряду с наследственностью, обязательным фактором эволюции.

4.1.1. ФОРМЫ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ

С одной стороны, обязательная характеристика живых форм состоит в наличии у них генотипа и фенотипа (см. п. 1.3), с другой - биоинформация, связанная с генами (сайтами, нуклеотидными последовательностями ДНК) напрямую, не принимая участия в процессах жизнедеятельности и развития непосредственно, является в функционально-генетическом плане фактически **«потенциальной»**, тогда как **актуализированная (действующая)** биоинформация связана с белками и, следовательно, фенотипическими признаками и свойствами клеток и организмов (см. п. 2.4.5.4). Это порождает проблемы, во-первых, реализации генотипической биоинформации в фенотипическую биоинформацию (см. п. 2.4.5.4; 2.4.5.5 и 2.4.5.6) и, во-вторых, выделения разных форм биологической изменчивости.

Биологическую изменчивость подразделяют на генотипическую и фенотипическую. **Генотипическая изменчивость** распространяется на генетический аппарат - структурные (смысловые, кодирующие, транскрибируемые, транслируемые) гены или сайты (нуклеотидные последовательности) ДНК с иными функциями, хромосомы, геном, генотип, кариотип. Генотипическая изменчивость подразделяется на мутационную и комбинативную. **Мутационная генотипическая изменчивость** реализуется по уровням структурно-функциональной организации генетического аппарата (см. п. 4.3). Соответствующие изменения носят название **мутаций**, которые бывают **генными**, **хромосомными** и **геномными**. Примеры мутаций разного уровня приведены ниже (генные - см. п. 4.3.1.3; хромосомные - см. п. 4.3.2.2; геномные - см. п. 4.3.3.1). Отметим еще раз, что только с генными мутациями связано появление новой, ранее не существовавшей в природе биоинформации. Хромосомные и геномные мутации в функционально-генетическом отношении сводятся либо к изменению количества биоинформации (делеции, дупликации участков хромосом, гаплоидные, полиплоидные или анэуплоидные клетки и организмы), либо к перекombинации блоков биоинформации разного объема (транслокации, транспозиции, инверсии, инсерции).

Современная (молекулярная) генетика расширяет область знаний, касающихся форм биологической изменчивости. В частности, в дополнение к генным, хромосомным и геномным мутациям классической генетики, возникающим скачкообразно (сальтаторно) и поэтому удовлетворяющим принципу «все или ничего» (мутация либо происходит, либо нет), описаны «динамические» мутации - экспансия тринуклеотидных повторов (см. п. 4.3.1.3).

Биоинформационное обеспечение функций митохондрий клеток имеет свои особенности. Речь идет, в частности, о взаимодействии генов митохондриальной и ядерной локализации. Такие взаимодействия необходимо учитывать, поскольку их наличие вносит дополнения в представления о полном объеме генотипических (мутационных) изменений, случающихся в эукариотических клетках. В сферу интересов современной медицинской генетики прочно вошли митохондриальные болезни, причиной которых могут быть в том числе изменения генов, приводящие к нарушению механизмов взаимодействия ядерного и митохондриального геномов (межгеномные сигнальные эффекты, см. п. 4.3.1.3).

Относительно недавно в профессиональном словаре генетиков и эмбриологов появился термин - **геномный импринтинг** (от англ. *imprint* - отпечаток), или **геномная память**. Суть явления заключается в том, что оба родителя передают потомству в принципе одинаковые гены, например, занимающие гомологичные локусы в паре гомологичных аутосом, но эти гены несут отпечаток пола родителя, давшего через свою гамету в зиготу хромосому с импринтированным сайтом. Импринтированными могут быть как отдельные сайт или хромосома, так и геном в целом (отцовский или материнский, но не оба одновременно). Импринтированная генетическая структура (сайт, хромосома, геном) выключается из функции. Так как импринтинг предположительно связывают с метилированием ДНК, его рассматривают как фактор **эпигенетической регуляции** генетической активности (конкретно подавление этой активности). Последнее не позволяет считать случаи проявления геномной памяти мутациями. Тем не менее рассматриваемый феномен характеризуется отчетливыми фенотипическими изменениями, в том числе патологическими - болезнями импринтинга (у человека более 30). При вовлечении у людей в импринтинг целиком генома развиваются истинный пузырный занос (диандрогенные особи - оба генома диплоидных клеток, начиная с зиготы, отцовские) и тератомы (дигиногенные особи - оба генома материнские). В обоих случаях зародыш

Источник KingMed.info

нежизнеспособен, что заставляет исключить для людей возможность партеногенетического развития (т. е. без оплодотворения яйцеклетки спермием).

Импринтирование критического участка хромосомы 15 (*q11.2-q13*) дает либо синдром Ангельмана (Энжельмена) - **отцовская одноро-дательская дисомия**, либо синдром Прадера-Вилли - **материнская однородительская дисомия** по указанному участку. В первом случае импринтирован соответствующий сайт материнской хромосомы 15 и, таким образом, генетически активен отцовский, во втором - наоборот.

Феномен **комбинативной генотипической изменчивости** состоит в образовании различных сочетаний (комбинаций) структур генетического аппарата по уровням его организации - генов (аллелей или аллельных генов), хромосом или их участков, геномов. В функционально-генетическом плане каждое такое сочетание - уникальный по биоинформационному содержанию комплекс. Типичный пример - половое размножение. В гаметогенезе в профазе первого деления мейоза путем рекомбинации (кроссинговер) меняется генный (аллельный) состав гомологичных хромосом. В анафазе этого же деления благодаря независимому расхождению к полюсам клетки негомологичных хромосом отцовского и материнского происхождения в хромосомных наборах дочерних клеток объединяются разные по происхождению и, следовательно, аллельному составу хромосомы, причем от клетки к клетке (фактически от гаметы к гамете) в несовпадающем числовом отношении. При оплодотворении в зиготе на случайной основе комбинируются геномы яйцеклетки и спермия.

Область выражения **фенотипической изменчивости**, как это следует из названия, - фенотип. Некоторые признаки характеризуются вариабильностью (изменчивостью), в основе которой лежат не генотипические изменения на уровне генов, хромосом или генома, а влияния на фенотипические проявления генов факторов среды, прежде всего внешней (3-го порядка, см. п. 4.3.1.1). Такие ненаследственные изменения, отвечающие понятию фенотипической изменчивости, называются **модификациями**. Классические примеры модификаций - разная в зависимости от температуры окружающей среды окраска шерсти на различных участках тела у кроликов горностаевой породы (рис. 4.1) и разная форма воздушных, плавающих и подводных листьев растения стрелолиста. Соответственно, говорят о **модификационной фенотипической изменчивости**. Биологи-эволюционисты подчеркивают роль этой формы биологической изменчивости в процессе видообразования, видя в ней фактор высокой экологической, а также эволюционной пластичности определенных видов животных и растений. С наличием в природе модификаций связывают колебания степени выраженности признаков, описываемые в генетике понятиями экспрессивности и пенетрантности (см. п. 4.3.1.1).

Феномен модификационной изменчивости, вариабильность степени выраженности признаков в зависимости от условий среды, создает

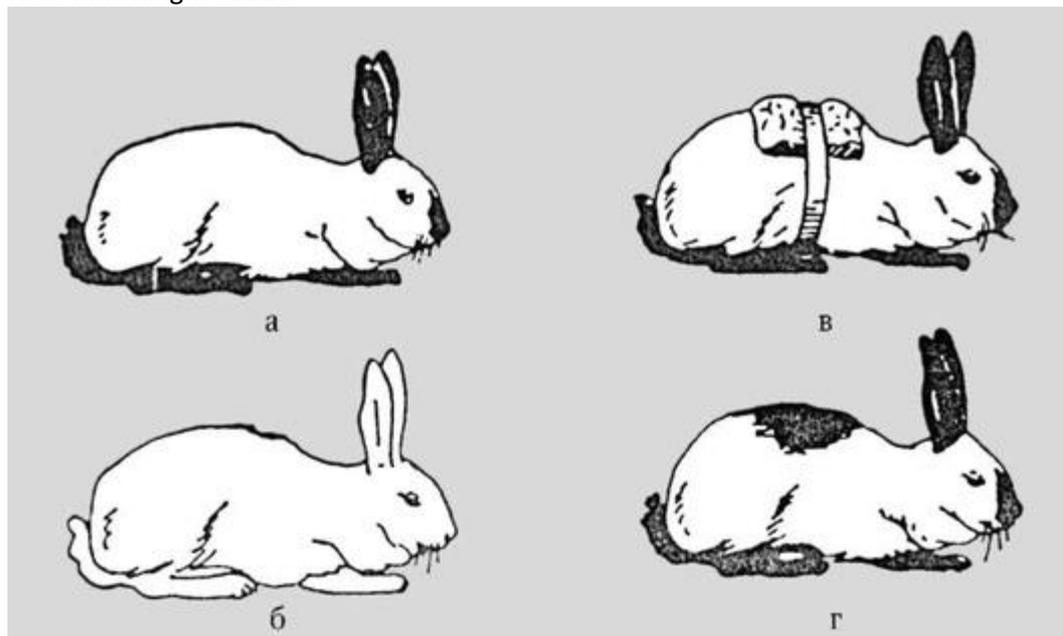


Рис. 4.1. Изменения пигментации шерстного покрова в зависимости от температуры у кроликов горностаевой породы: а - кролик, выращенный при температуре 14-18 °С; б - кролик, выращенный с рождения при температуре более 30 °С; в - кролик с удаленным на спине участком шерсти и помещенным на этом месте пузырем со льдом; г - тот же кролик после того, как на участке с удаленной шерстью и пузырем со льдом шерсть отросла

проблему отношений между геном и соответствующим ему признаком, генотипом и фенотипом. В связи с названной проблемой необходимо остановиться на генетическом понятии «**норма реакции**». По существу речь идет о характере (норме) реакции конкретного гена или генотипа в целом на определенные условия среды 1-го, 2-го, 3-го порядка (см. п. 4.3.1.1), в которых они реально функционируют. Известны **гены с узкой** и **гены с широкой нормой реакции**. Первые дают неизменный фенотипический результат в широком спектре условий, тогда как вторые отличаются значительной вариабельностью фенотипического результата их генетической активности. Так, гены, определяющие принадлежность человека к группе крови систем *ABO* или резус (*Rh*), характеризуются узкой нормой реакции. Гены, контролирующие окраску шерсти кроликов горностаевой породы (см. рис. 4.1), - широкой. Даже в отношении генов с узкой нормой реакции существует возможность, пусть редко реализующаяся, возникновения условий, изменяющих фенотипический результат их генетической активности или блокирующих эту активность. В качестве примера приведем из-

вестный еще классической генетике «бомбейский феномен». Речь идет о рождении женщиной с группой крови I (I^0I^0) ребенка с группой крови IV ($I^A I^B$). Очевидно наличие в генотипе матери аллелей I^A , I^B или обеих одновременно, которые у нее фенотипически не проявились. Объяснение кроется в особенностях генотипической среды женщины, в явлении рецессивного эпистаза - одной из форм взаимодействия не-аллельных генов (см. п. 4.3.3.1).

Наряду с модификационной, выделяют **случайную фенотипическую изменчивость** - костную мозоль на месте сросшегося перелома. О **непрерывной фенотипической изменчивости** говорят тогда, когда распределение особей с разной степенью выраженности признака соответствует нормальному. Такое наблюдается, в частности, при полимерном типе полигенного наследования (см. табл. 4.3) количественных признаков, например, роста у людей.

4.2. история представлений об организации и функционировании генетического аппарата

Источник KingMed.info

Наследственность и изменчивость как неотъемлемые признаки живых существ обеспечиваются особым материальным субстратом. В процессе развития биологической науки представления о химической природе этого субстрата, его свойствах, принципах организации и функционирования конкретизировались и расширялись.

1865 г., Г. Мендель. Экспериментально обосновал и сформулировал идею о наследственных задатках, их дискретности (корпускулярности), специфичности и аллельном состоянии, наличии доминантных и рецессивных вариантов наследственных задатков (аллелей) или признаков, присутствии в половых клетках только одного аллеля (гаплоидность, чистота гамет) каждого наследственного задатка, а в соматических клетках - двух (диплоидность). Открыл правило независимого комбинирования аллелей разных наследственных задатков у потомка. Открытые Г. Менделем свойства и особенно правила поведения наследственных задатков (**менделизм**) справедливы для генетики организмов, размножающихся половым путем. В 1909 г. В. Иогансен назвал наследственные задатки Г. Менделя генами (от греч. *génos* - род, происхождение).

1865 г., Ф. Гальтон. Выходит в свет работа «Наследование таланта и характера», с чего начинается генетика количественных признаков человека (**биометрическая генетика**). Следствие указанной работы - возникновение «**евгеники**». В формировании методических и методологических основ биометрической генетики принимал активное участие **К. Пирсон**. В 1918 г. **Р. Фишер** высказал подтвердившееся затем предположение, что в наследовании количественных признаков важная роль принадлежит взаимодействующему участию многих наследственных задатков (полимерное наследование).

1887 г., А. Вейсман. Выдвинул умозрительную теорию (гипотезу) о наличии бессмертной «**зародышевой плазмы**» и смертной «**сомато-плазмы**», в которой предвосхитил современные представления о хромосомах как носителях наследственности (**вейсманизм**).

1888 г., В. Вальдейер. Предложил термин «**хромосома**» для обозначения особых ядерных структур.

1900 г., Г. де Фриз, К.Э. Корренс, Э. Чермак. Переоткрыли для науки и медицинской практики закономерности наследования признаков, установленные Г. Менделем в 1865 г.

1901 г., Г. де Фриз. Сформулировал основные положения мутационной теории, предложил термин «**мутация**».

1902-1907 гг., Т. Бовери. У. Сеттон. Пришли к заключению и представили доказательства, что внутриклеточными носителями генетической программы являются хромосомы.

1902 г., У. Бэтсон. Ввел термины «**генотип**» и «**фенотип**».

1902 г., А. Гаррод. Показал **аутосомно-рецессивный тип наследования** алкаптонурии (выделение с мочой вещества алкаптона, окисляемого кислородом воздуха до соединения темного цвета, которое выпадает в осадок; у генетически нормальных лиц алкаптон метаболизирует до воды и углекислоты через стадию образования ацетоуксусной кислоты).

1905 г., Фараби. Показал **аутосомно-доминантный тип наследования** брахидактилии (короткопалость).

Источник KingMed.info

1909 г., В. Иогансен. Предложил называть единицы наследственности (наследственные задатки) **генами**, совокупность генов организма - **генотипом**, проявление генов (совокупность признаков и свойств) организма - **фенотипом** (см. здесь же, выше: 1902 г., У. Бэтсон).

1909 г., К.Э. Корренс, Э. Баур. Открыли явление **цитоплазматической (нехромосомной) наследственности**.

1910-1925 гг., Т. Морган. Обобщив результаты исследований возглавляемого им коллектива, сформулировал основные положения **хромосомной теории наследственности (морганизм)**. Нобелевская премия 1933 г. «За открытия, касающиеся роли хромосом в наследственности».

1926 г., Х.Дж. Мёллер. Обнаружил **мутагенное действие рентгеновых лучей**. Нобелевская премия 1946 г. «За открытие возникновения мутаций под действием рентгеновых лучей».

1926 г. С.С. Четвериков. Отметил значение **генетических процессов в популяциях** организмов для эволюции.

1932 г., С.Н. Давиденков. Определил принципиальные направления профилактики наследственных болезней (борьба с возникновением новых мутаций, медико-генетический совет в семьях, медико-социальная охрана лиц, наследственно предрасположенных к определенной патологии). Заложил основы **медико-генетического консультирования (МГК)**, т. е. использования генетических знаний в интересах практического здравоохранения.

1944 г., О.Т. Эйвери. Установил химическую природу вещества наследственности - **ДНК**.

Начало 1950-х годов, Б. Мак-Клинток. Открыла **МГЭ** («прыгающие» гены, транспозоны). Нобелевская премия 1983 г. «За открытие подвижных элементов генома».

1953 г., Дж. Уотсон, Ф. Крик, М. Уилкинс. Представили доказательства **организации ДНК в виде спирали из двух комплементарных друг другу молекул**. Нобелевская премия 1962 г. «За открытие молекулярной структуры нуклеиновых кислот и ее значения в передаче информации в живой материи». В 1928 г. Н.К. Кольцов, предвосхитив положения современной генетики и молекулярной биологии, сформулировал предположение о матричном принципе репродукции хромосом.

1955-1966 гг., Х.Г. Корана, М.У. Ниренберг. Расшифровали кодовую систему записи генетической информации в молекулах нуклеиновых кислот - **генетический код**. Нобелевская премия (совместно с Р.У. Холли, который раскрыл **роль в биосинтезе белков тРНК**) 1968 г. «За расшифровку генетического кода и его функции в синтезе белков».

1956 г., Дж. Тийо, А. Леван. Установили истинное число хромосом в соматических (диплоидных) клетках человека - 46.

1958 г., Ж. Лежен. Открыл **трисомию** по хромосоме 21 при синдроме Дауна.

1959 г., К.Э. Форд с коллегами, П.А. Джекобс, И.А. Стронг. Установили связь **синдромов Шерешевского-Тернера и Клайнфельтера** с изменениями числа половых хромосом.

1960 г. (Денвер); 1963 г. (Лондон); 1966 г. (Чикаго). Унифицированы представления по классификации и номенклатуре равномерно окрашенных хромосом человека; **1971 г. (Париж).** Уточнена и конкре-

тизирована номенклатура хромосом человека по результатам их дифференциальной (избирательной) окраски, обеспечивающей персональную идентификацию отдельных хромосом;

Источник KingMed.info

1978 г. Введена **ISCN - An international system for human cytogenetic nomenclature** - «путеводитель» по кариотипу человека.

1961 г., Ф. Жакоб, Ж.Л. Моно. Сформулировали гипотезу о **переносе генетической информации с ДНК на белок** при участии **иРНК**. Нобелевская премия (совместно с А.М. Львовым) 1965 г. «За открытия, касающиеся генетической регуляции синтеза ферментов и вирусов».

1970-е годы, Р.Д. Робертс и Ф.А. Шарп. Предоставили доказательства **интрон-экзонной организации генов** эукариот. Нобелевская премия 1993 г. «За открытие расщепления генов». Экспериментальные доказательства делимости гена представлены **А.С. Серебровским и Н.П. Дубининым** в 1929 г.: мутации в разных частях «сложного» гена *achaete scute* (редукция щетинок) плодовой мухи приводили к отсутствию разных щетинок.

1989-2001 гг., Дж. Уотсон, Ф. Коллинз, К. Вентер, фирма Salera и Международная организация по изучению генома человека (Human Genome Organization - HUGO), многие участники из разных стран, включая Россию. Начаты и завершены вчерне работы по проекту «**Геном человека**». Секвенируются геномы других организмов, в том числе возбудителей инфекционных и паразитарных болезней, а также ближайших «эволюционных родственников» человека.

Кроме того:

1937-1953 гг., Дж.У. Бидл, Э.Л. Тейтам, Дж. Ледерберг. Нобелевская премия 1958 г. «За открытия, касающиеся генетической рекомбинации и организации генетического аппарата бактерий».

1955-1957 гг., С. Очоа, А. Корнберг. Нобелевская премия 1959 г. «За открытие механизмов биологического синтеза нуклеиновых кислот вне живого организма».

1909 г., Ф.П. Раус. Нобелевская премия 1966 г. «За открытие онко-генных вирусов».

1940-1980 гг., Р. Леви-Монталчини, С. Коэн. Нобелевская премия 1986 г. «За открытие факторов роста».

1970-е годы, Дж.М. Бишоп, Х.Э. Вармус. Нобелевская премия 1989 г. «За открытие клеточного происхождения ретровирусных онкогенов».

1980-е годы, С.Б. Прузинер. Нобелевская премия 1997 г. «За открытие прионов - новой биологической причины инфекций».

Конец XX-начало XXI вв., Э. Блэкберн, К. Грейдер, Д. Шостак.

Нобелевская премия 2009 г. «За открытие механизма защиты хромосом теломерами и теломеразами».

4.3. уровни организации генетического аппарата эукариот

В современном мире жизни материальным носителем свойств наследственности и изменчивости является **ДНК**, «выигравшая» историко-эволюционное «соревнование» у **РНК** (см. п. 1.4.5). Этому способствовали ее большая химическая стабильность и особенности ма-кромолекулярной и надмолекулярной организации. ДНК - высокомолекулярное полимерное соединение. Независимая комбинация по длине макромолекул троек из четырех нуклеотидов-мономеров, строящих ДНК, позволяет **записать необходимый объем биоинформации**, а надмолекулярная организация в виде двойной спирали делает возможным **матричный синтез**. Он составляет

Источник KingMed.info

основу **тиражирования** (репликация ДНК - см. п. 2.4.5.3) биоинформации для передачи в ряду поколений или **копирование** (транскрипция информационной или матричной РНК - см. п. 2.4.5.5) этой информации для использования в организации процессов жизнедеятельности. Участки макромолекул ДНК могут быть химически модифицированы (например, метилированы), что в процессе эволюции стало механизмом регуляции генетической активности. ДНК образует химические связи с белками, что также было использовано эволюцией для создания тонких механизмов регуляции генетических функций. Напомним, что в эукариотических клетках ДНК присутствует в виде комплекса с гистоновыми (основными по химической характеристике) белками, выполняющими роль ингибиторов генетической активности, а негистоновые (кислые по химической характеристике) белки, ослабляя указанное действие гистонов путем взаимодействия с ними, обуславливают возможность использования биоинформации, присутствующей в ДНК, причем в клетках многоклеточных организмов частями. Несмотря на химическую стабильность, нуклеотидные последовательности в макромолекулах ДНК могут быть изменены. При этом такие изменения сохраняются в структуре биополимера при его репликации.

Решение задач, которые жизнедеятельность ставит перед эукариотическими клетками, особенно у многоклеточных форм, требует большой точности и надежности биологических механизмов. Возможно, что, по

крайней мере, отчасти в связи с этим, их генетический аппарат (аппарат наследственности и изменчивости) претерпел в эволюции изменения в сторону его усложнения.

В генетическом аппарате эукариотической клетки (эукариотических организмов, включая человека) выделяют три уровня структурной и одновременно функционально-генетической организации: **генный, хромосомный и геномный**. На каждом из них решаются свои специфические задачи, с одной стороны, наследственности, а с другой, - биологической изменчивости с целью требуемого биоинформационного обеспечения процессов жизнедеятельности, размножения, индивидуального (онтогенез) и исторического (филогенез, эволюция) развития.

Наряду с такими понятиями, как «ген», «хромосома» и «геном», существуют важные генетические понятия «генотип» и «кариотип», имеющие непосредственное отношение к структурно-функциональной организации генетического аппарата эукариот.

Генотип - это совокупность аллелей всех генов или нуклеотидных последовательностей, сайтов ДНК в **диплоидном наборе хромосом**. **Кариотип** - это парный (диплоидный) набор хромосом в ядре соматической клетки организмов соответствующего биологического вида. Существует определение кариотипа с элементами конкретизации. В соответствии с этим определением кариотип рассматривается как совокупность признаков хромосомного набора (не только число, но и размер, форма хромосом), характерных для соматических (диплоидных) клеток того или иного вида организмов.

4.3.1. ГЕННЫЙ УРОВЕНЬ ОРГАНИЗАЦИИ ГЕНЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕНА. ПРИЗНАК КАК ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ПОНЯТИЕ

Функциональной единицей генетического аппарата, определяющей возможность развития отдельно взятого признака клетки или организма, является ген. Именно так определяет понятие «ген» (по Г. Менделю, **наследственный задаток**) классическая генетика.

С развитием генетики возник ряд версий определения гена, как правило, конкретизирующего характера. Если определение, вытекающее из научного багажа классической (домолекулярной)

Источник KingMed.info

генетики, следует рассматривать как **функционально-генетическое**, то два наиболее заметных определения более позднего времени характеризуются как **биохимическое** и **молекулярно-биологическое**.

Биохимический подход в изучении природы элементарных фенотипических признаков, контролируемых напрямую генами, привел в 1950-е годы XX в. к заключению, что таковыми являются ферменты. Появился тезис **«один ген - один фермент»**. Соответственно ген стали определять как участок макромолекулы ДНК, контролирующей образование конкретного белка-фермента (**биохимическое** определение гена).

Согласно **молекулярно-биологической** версии ген определяется как фрагмент макромолекулы ДНК, в котором содержится информация об аминокислотной последовательности полипептида (экспрессируемый, транскрибируемый и транслируемый ген) или нуклеотидной последовательности РНК определенного вида, прежде всего рРНК и тРНК (экспрессируемый, транскрибируемый, но не транслируемый ген, см. также п. 2.4.5.5 - транскрибируемые, но не транслируемые 5' и 3' участки транскрипта эукариот). Молекулярно-биологическое определение гена в наибольшей степени соответствует понятию **«структурный (смысловой, кодирующий, экспрессируемый) ген»**.

Молекулярно-генетическая версия определения гена не противоречит ни функционально-генетической (классической), ни биохимической версии. Она лишь указывает на необходимость определенных дополнений. Так, и это сейчас известно, полипептиды, образуемые клеткой или организмом под контролем соответствующих генов, вносят свой вклад в процессы жизнедеятельности и индивидуального развития не только благодаря каталитическим свойствам, но и выполняя регуляторные и сигнальные (транскрипционные и ростовые факторы, цитокины и рецепторы к ним), строительные (коллагены), транспортные (глобины) и другие функции. Семейство транскрибируемых и нетранслируемых генов, кодирующих специфические по решаемым функциональным задачам разновидности РНК (выполняющие, например, конценсусные функции - см. п. 2.4.5.5, малые ядерные РНК) также пополняется.

Проект **«Геном человека»** показал, что нуклеотидные последовательности, отвечающие молекулярно-биологическому определению гена, составляют не более 5% от суммарного количества ДНК. В настоящее время популярность приобретает термин **сайт**. Им обозначают **нуклеотидную последовательность**, занимающую конкретное место в биспирали ДНК определенной хромосомы. В известной мере термин «сайт» можно рассматривать как синоним термина «локус» классической генетики. Таким образом, сайт - это конкретная нуклеотидная последовательность, соответствующая по функционально-генетической характеристике, прежде всего, структурному гену. Не исключаются, однако, любые другие функции - регуляторная, сервисная, конценсусная.

Пояснения заслуживает редко используемый сейчас термин **«цистрон»**. По-существу, цистрон - это ген. Чаще термин «цистрон» используют, говоря о прокариотах. Для прокариотических геномов характерна полицистронная организация функциональных генетических единиц, полицистронный формат транскрипции генов и, следовательно, трансляции соответствующих белков (см. п. 2.4.5.6) с единицей транскрипции **опероном**. Для эукариот типичен моноцистронный формат транскрипции и трансляции (исключением, возможно, являются гомео-зисные гены - см. п. 4.3.3.2). Единицей транскрипции в этом случае является **транскриптон** (см. п. 2.4.5.5).

Результат генетической активности состоит в определенном фенотипическом проявлении, т. е. в возникновении признака. Под **признаком** в генетике понимают единицу морфологической,

Источник KingMed.info

физиологической, биохимической, иммунологической, клинической и любой другой дискретности клетки (организма) или, иными словами, отдельное качество или свойство, по которому одну клетку (организм) можно отличить от другой (другого). Большинство признаков клетки или организма относится к категории сложных. **Сложные признаки** для своего оформления требуют синтеза многих веществ, прежде всего белков со специфическими свойствами - ферменты, структурные, сократительные, транспортные, рецепторные. Механизмы формирования сверхсложных морфологических (морфогенезы), физиологических (функциогенезы), поведенческих признаков наиболее полно проявляют себя в ходе индивидуального развития особи.

Процесс реализации генетической информации в фенотип организма в онтогенезе начинается с находящегося под прямым генетическим контролем образования простых белков (полипептиды, протеины). Функциональные свойства последних определяются аминокислотной последовательностью, которая задается последовательностью триплетов нуклеотидов в ДНК соответствующего структурного (смыслового, кодирующего, транскрибируемого и транслируемого, экспрессируемого-го) гена. Таким образом, полипептид, будучи **первичным продуктом генетической активности**, свойства которого напрямую определяются геном, является **элементарным (простым) фенотипическим признаком**. В соответствии с приведенным выше определением, элементарные фенотипические признаки организма - это в основном простые белки с каталитической, транспортной, рецепторной и другими

функциями. Особое место в выяснении закономерностей наследования и изменчивости таких признаков, в том числе патологических, принадлежит биохимическим и иммунохимическим методам генетического анализа человека (см. пп. 5.2.2.4 и 5.2.2.5).

Одно время распространение приобрел тезис **«один ген - один полипептид»**. Открытие альтернативного сплайсинга (см. п. 2.4.5.5), генов-«матрешек», когда структурный ген меньшего размера размещается в пределах другого более крупного гена, наличия у одного, обычно крупного, гена нескольких промоторов (гомеозисные гены - см. п. 4.3.3.2) делают этот тезис либо неприемлемым вообще, либо имеющим ограниченное распространение. В научно-педагогической литературе высказывается мнение, что известным в настоящее время генетическим и молекулярно-биологическим фактам не противоречит тезис **«один полипептид - один ген»**.

4.3.1.1. Свойства гена. Среда как генетическое понятие

Ген как функционально-генетическая единица наделен рядом свойств.

Во-первых, он отличается **специфичностью** действия. Это означает, что конкретный ген обуславливает возможность присутствия в фенотипе клетки (организма) конкретного признака. Известно, однако, немало примеров **плейотропии** или **плейотропного действия гена**.

Оно состоит в том, что один структурный ген контролирует образование в организме нескольких или даже многих признаков (рис. 4.2). Достаточно вероятно, что плейотропное действие генов связано с участием продуктов их экспрессии (полипептиды) в целом спектре процессов жизнедеятельности (рис. 4.3).

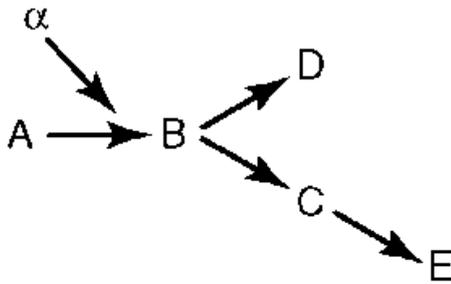


Рис. 4.2. Плейотропный эффект гена. Зависимость формирования нескольких признаков от функций продукта экспрессии гена. Нарушение реакции $A \rightarrow B$, катализируемой белком-ферментом, в результате мутации гена ведет к формированию признаков D и E

Наблюдается тенденция расширения области использования исходно генетического понятия плейотропии в биологии. В основе названной тенденции лежат пришедшие, видимо, из химии представления о том, что практически химический (в мире жизни клеточно-биохимический, метаболический) процесс, кроме желательного (для живых форм, биологически целесообразного) результата, нередко дает побочные нежелательные эффекты, за которыми закрепилось название **параметаболических**. Примером неблагоприятного с биологической точки зрения параметаболического эффекта (**альтернативный плейотропный эффект**) может служить неизбежное образование активных форм кислорода (с их разрушительным действием на биополимеры и клеточные структуры) в связи с биологически бесспорно целесообразными процессами окислительного фосфорилирования в митохондриях. В параметаболических процессах, порождающих в биологических системах антагонистические (разнонаправленные, биологически целесообразные и одновременно и неизбежно биологически вредные) альтернативные плейотропные эффекты, видят, в частности, ведущее звено старения высших многоклеточных животных.

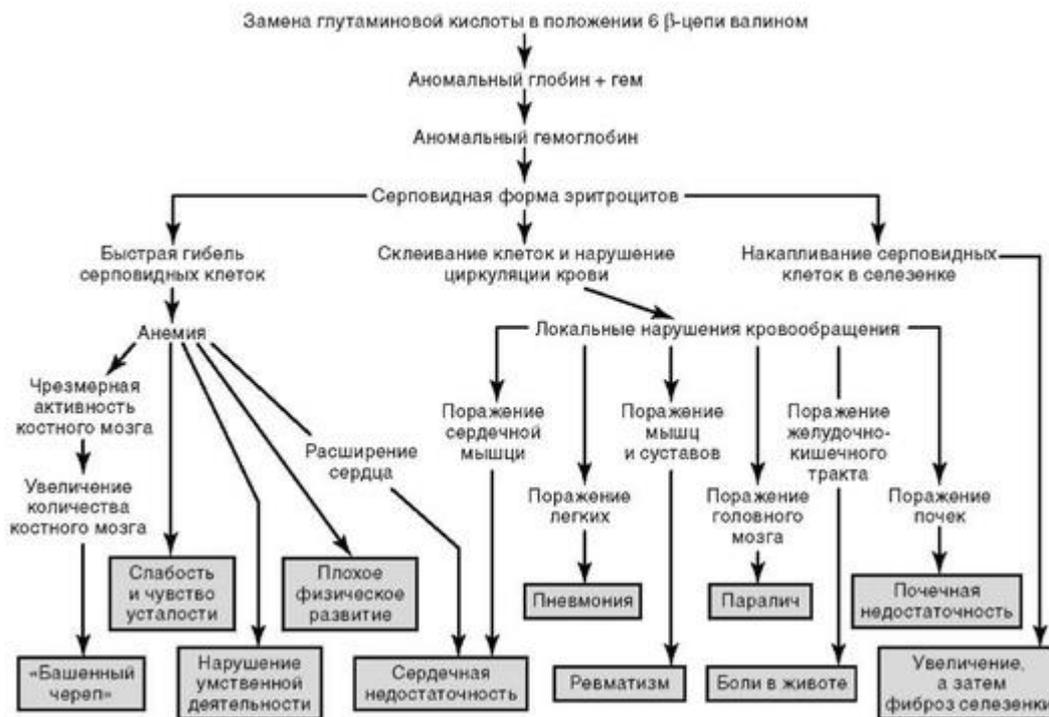


Рис. 4.3. Плейотропный эффект замены одной аминокислоты в β -глобине гемоглобина человека, проявляющийся клинически в виде серповидноклеточной анемии

Источник KingMed.info

Наряду с плейотропией, при которой одна генотипическая причина дает несколько фенотипических эффектов, существует понятие **генетической гетерогенности**, когда разные генотипические причины приводят к одному фенотипическому эффекту. Так, заболевание «наследственная полинейропатия Дежерина-Сотта», фенотипически характеризующееся врожденной демиелинизацией периферических нервов, возникает в случае мутаций в разных генах - *PMP22* (хромосома 17), *Po* (хромосома 1), *EGR2* (хромосома 10) и *PRX* (хромосома 19). Конечно, все названные гены имеют отношение к образованию и структурному оформлению миелина и оболочек периферических нервов.

В практике МГК важное место принадлежит понятиям «**генокопии**» и «**фенокопии**». **Феномен генокопирования** проявляется в том, что сходный фенотипический результат может быть обусловлен изменениями в разных генах или различными мутациями одного гена (явление генетической гетерогенности, см. здесь же, выше). **Феномен фенокопирования** состоит в том, что состояние признака, сходное с фенотипическими последствиями определенных мутаций, обусловлено не изменениями наследственных структур, а зависит от условий среды (генотипической или 1-го порядка, 2-го и 3-го порядков, см. здесь же, ниже), в которых происходит реализация генотипа в фенотип.

Во-вторых, ген имеет **корпускулярную природу** и характеризуется **дискретностью действия**, т. е. представляет собой в структурном и функционально-генетическом отношении отдельность. В силу дискретности генов возможны, с одной стороны, независимое наследование признаков, а с другой - генные или точковые мутации, затрагивающие в своем фенотипическом выражении отдельно взятые признаки (но: см. явление плейотропии - здесь же, выше). Корпускулярная природа и свойство дискретности генов составляют основу механизма независимого комбинирования признаков родителей в фенотипе потомства, т. е. их независимое друг от друга наследование (см. табл. 4.3).

В-третьих, гены как функционально-генетические единицы характеризуются **дозированностью действия**. Если фенотипический признак имеет количественное выражение, то его количество обычно пропорционально числу доминантных аллелей гена (см. п. 4.3.1.2). Так, содержание витамина А в исходно триплоидных клетках эндосперма растений пропорционально количеству доминантных аллелей соответствующего гена и убывает в ряду генотипов ААА, ААа, Ааа и ааа. Тем не менее эволюция создала механизм полигенного наследования количественных признаков с участием нескольких или даже многих генов, характеризующихся аддитивностью, т. е. суммированием действия (см. п. 4.3.3.1).

Для характеристики степени выраженности признака или вероятности его проявления в фенотипе организма при наличии в генотипе соответствующего гена в генетике используют понятия экспрессивности и пенетрантности. **Экспрессивность** - это степень выраженности рассматриваемого признака в процентах по отношению к его максимальной выраженности среди всех особей с данным генотипом. **Пенетрантность** - это доля особей в процентах, у которых рассматриваемый признак проявился хотя бы в незначительной степени по отношению ко всем особям с данным генотипом. Конечно, показатели пенетрантности и экспрессивности генов зависят от разрешающей способности и точности применяемых методов регистрации (детекции) признаков. Вместе с тем на проявление гена в признак оказывают влияние факторы генотипической среды, внутренней среды организма и внешней или окружающей организм среды.

Сказанное обращает внимание на то, что в генетике нельзя использовать обобщенное понятие среды. Во-первых, речь может идти о **генотипической среде** (относительно гена - **среда 1-го порядка**), т. е. о всей совокупности генов, представленных конкретными аллелями (см. п. 4.3.1.2)

Источник KingMed.info

в генотипе данной особи. Приведенное определение генотипической среды дает возможность остановиться на различиях между такими генетическими понятиями, как «генотип» и «геном». В современной генетике очевидна тенденция относить первое понятие к генетической конституции отдельно взятого организма или индивидуума, тогда как второе - к генетическому «багажу» вида. Во-вторых, это может быть **внутренняя среда организма** данной особи (относительно гена - **среда 2-го порядка**; если речь идет о развитии плода, резонно выделять среду **2а** и **2б** порядков, имея в виду внутреннюю среду развивающегося и материнского организмов соответственно). В-третьих, это может быть **окружающая среда жизни** данной особи (относительно гена - **среда 3-го порядка**).

4.3.1.2. Аллельное состояние генов. Формы взаимодействия аллельных генов

Гены характеризуются свойством **аллельного состояния**. По-существу, аллели гена - это его **альтернативные** (по фенотипическому проявлению) **формы**. В классической генетике аллели так и определяли как альтернативные фенотипические состояния известного признака у жизнеспособных особей, имея в виду, что за признаком стоит наслед-

ственный задаток (ген). В настоящее время аллели - это варианты нуклеотидной последовательности участка молекулы ДНК, соответствующего, например, структурному (смысловому, кодирующему, транскрибируемому и транслируемому, экспрессируемому) гену. Количество альтернативных форм (аллелей) от гена к гену варьирует. Минимальное их число равно двум. У широко используемого в фундаментальной и экспериментальной генетике биологического объекта плодовой мухи (дрозофила) ген окраски глаз имеет порядка 1400 аллелей - **множественный аллелизм**. Ген, определяющий группу крови человека в системе *ABO*, имеет 3 аллеля (см. п. 4.1.1 и здесь же, ниже), в системе резус (*Rh*) - 2.

Между аллельными вариантами гена существуют функционально-генетические отношения, определяемые как **формы взаимодействия аллельных генов**. Типичные или наиболее частые варианты отношений (форм взаимодействия) - доминирование (от лат. *dominus* - господствующий), рецессивность (от лат. *recessus* - отступающий), кодоминирование, неполное доминирование (промежуточное наследование - см. табл. 4.3). Характер межаллельных отношений проявляется в фенотипах диплоидных (эукариотических) организмов, для которых известны состояния **гомозиготности** и **гетерозиготности** (по парам аутосом и паре половых хромосом гомогаметного пола, у человека - женский), **гемизиготности** (по паре половых хромосом гетерогаметного пола, у человека - мужской). У человека это идентифицируется путем анализа появления в ряду поколений потомков того или иного фенотипического варианта признака (метод родословных генетического анализа людей, см. п. 5.2.2.1).

Доминантные признаки воспроизводятся в каждом поколении, т. е. у гомозиготных, гетерозиготных и гемизиготных по соответствующему гену (локусу, сайту ДНК) организмов. **Рецессивный вариант признака** наблюдается при отсутствии доминантного аллеля (рецессивная гомозигота и гемизигота). Такой вариант обнаруживается не в каждом поколении, а в случае гемизиготности - как правило, только у особей гетерогаметного пола.

При **кодоминировании** у гетерозигот оба аллеля в равной мере участвуют в определении варианта признака, тогда как при **неполном доминировании** наличие рецессивного аллеля у гетерозигот препятствует фенотипическому проявлению доминантного аллеля в полном объеме (дозовый эффект, сравни генотипы *AA*, *Aa* и *aa*). Кодоминирование аллелей у людей наблюдается в наследовании групп крови *ABO*. Группы крови *O(I)*, *A(II)*, *B(III)* и *AB(IV)* определяются геном *I*, имеющим три аллеля - I^A , I^B и I^0 . Аллель I^0 относительно аллелей I^A и I^B проявляет свойство рецессивности. Аллели I^A и I^B кодоминантны, чем и объясняется наличие группы крови I^A/I^B или

Источник KingMed.info

AB(IV). Неполное доминирование наблюдается у людей-гетерозигот по аллелю серповидноклеточности эритроцитов (мутация $Hb\alpha 2\beta 26$ Глу→Вал), 60-65% гемоглобина которых имеет нормальную структуру, а 35-40% функционально дефектную, мутантную - в полипептиде β в 6-м положении аминокислота глутаминовая заменена на аминокислоту валин. Такие субъекты жизнеспособны и чувствуют себя комфортно за исключением ситуаций повышенной физической активности, в условиях высокогорья, при полетах на больших высотах или в холодное время года, когда в связи с развитием в организме состояния кислородной недостаточности они ощущают боли в суставах, в области сердца и селезенки.

Свойства доминантности и рецессивности аллелей (признаков) носят относительный характер - «неустойчивая доминантность», что зависит от ряда факторов, природа и механизмы которых не всегда понятны. Такой признак, к примеру, как эпикант («третье веко») проявляет свойство рецессивности у представителей европеоидной (кавказской) расы, но ведет себя как доминантный у представителей монголоидной расы. Отсутствие волос на голове (облысение) проявляет свойства рецессивного признака у женщин и доминантного у мужчин. То, что у женщин один из побочных эффектов применения в терапевтических целях мужского полового гормона тестостерона заключается в потере волос, указывает на участие гормонов в фенотипическом проявлении этого гена. Факторы относительности свойства доминантности могут иметь как генетическую, так и негенетическую природу. Установленные факторы генетической природы - характер взаимодействия неаллельных генов и локализация аллеля в хромосоме - эффект положения (особенности генотипической среды, см. п. 4.3.1.1). С другой стороны, известно, что характер доминирования зависит от пола и возраста организма (особенности среды 2-го порядка, см. п. 4.3.1.1), а также внешних условий (особенности среды 3-го порядка, см. п. 4.3.1.1).

При множественном аллелизме обычно один аллель серии является рецессивным относительно всех остальных, тогда как другие связаны отношениями «доминантность-рецессивность», «неполное доминирование» или «кодоминирование». В серии аллелей гена окраски глаз дрозофилы абсолютно рецессивным является аллель *white* (белый), в системе групп крови *ABO* человека - I^0 . Аллель серии, наиболее распространенный в природе (обычно соответствует нормальному состоянию фенотипического признака), называется «**аллель дикого типа**».

К сравнительно редким формам взаимодействия аллельных генов относятся межаллельная комплементация (взаимодополнение) и аллельное исключение. О **межаллельной комплементации** говорят тогда, когда у организма, гетерозиготного по двум мутантным аллелям конкретного гена, в фенотипе обнаруживается признак в нормальном, т. е. наиболее часто встречаемом состоянии («дикий тип»). Допустим, что ген *D* контролирует образование клеткой белка с четвертичной структурой в виде комплекса из нескольких одинаковых полипептидов - мультигомобелковый комплекс. Один мутантный аллель D' определяет экспрессию измененного полипептида D' , а второй аллель D'' - тоже мутантный, но по другому участку гена, определяет экспрессию мутантного полипептида D'' , причем с другим изменением аминокислотной последовательности. Допускается, что при формировании четвертичной структуры с участием измененных, но по-разному, полипептидов D''' и D'' происходит компенсация изменений, и в итоге формируется сложный мультигомобелковый комплекс с нормальной функцией.

Суть **аллельного исключения** поясняет пример генетической инактивации одной из хромосом *X* у особей гомогаметного пола (у человека - женский, 46XX), функционально-генетический смысл которой заключается в компенсации дозы генов соответствующей группы сцепления (хромосомы *X*) относительно гетерогаметного пола (у человека - мужской, 46XY). По

Источник KingMed.info

хромосоме X гомогаметный пол представлен особями-«мозаиками» - одна хромосома X материнского, тогда как другая отцовского происхождения. Так как генетическая инактивация носит относительно хромосом материнского и отцовского происхождения случайный характер, при гетерозиготности организма в одних клетках активен аллель, полученный с хромосомой X матери, тогда как в других активен аллель, полученный с хромосомой X отца. Это приводит к фенотипическому мозаицизму (рис. 4.4).

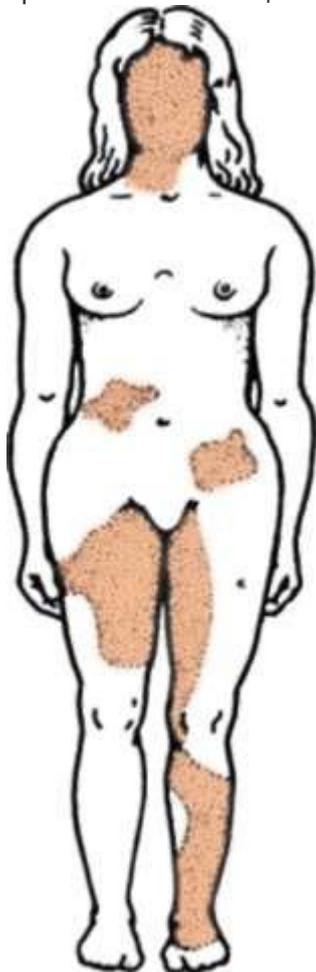


Рис. 4.4. Мозаицизм женского организма (кариотип 46,XX) по наличию или отсутствию потовых желез в коже, обусловленный экспрессией нормального или мутантного аллеля гена хромосомы X. Затемнены участки кожи, лишенные потовых желез, в клетках которых экспрессируется мутантный аллель

4.3.1.3. Изменения нуклеотидных последовательностей ДНК. Генные мутации

Неустраненные и/или неисправленные (см. п. 2.4.5.3-а) изменения химической структуры генов (сайтов, нуклеотидных последовательностей ДНК), воспроизводимые в последующих циклах репликации и проявляющиеся у потомков в виде измененных вариантов признака, называют **генными мутациями**.

Такие изменения можно подразделить на три группы. Мутации первой группы заключаются в **замене одного нуклеотида на другой**. Напомним, что нуклеотиды, из которых состоят макромолекулы ДНК, различаются по азотистому основанию, что дает право рассматривать главное событие генных мутаций первой группы как замену одного азотистого основания на другое. На их долю приходится порядка 20% спонтанно (самопроизвольно, без видимой причины) случающихся генных изменений.

Источник KingMed.info

Вторая группа мутаций обусловлена **сдвигом «рамки считывания»**, что является следствием изменения числа пар нуклеотидов в пределах гена как в сторону уменьшения (**делеция** - потеря участка гена), так и увеличения (**дупликация** - удвоение участка гена). Причиной сдвига «рамки считывания» может стать встраивание (**инсерция**) в ген участка молекулы ДНК, в частности, вирусной природы (**МГЭ**, или **транспозоны**) или из другой хромосомы - **транслокация** (см. пп. 1.4.6, 2.4.3.4-д, 2.4.3.4-е, 3.1.4).

Мутации третьей группы связаны с **изменением порядка следования нуклеотидов в пределах гена (инверсия)**.

Названные варианты генных мутаций в функционально-генетическом отношении отвечают принципу **«все или ничего»**, т. е. мутация либо произошла и проявилась в фенотипе (возможно, через поколения), либо нет. Они случаются как в смысловых (экзоны), так и иных (интроны, области промоторов, энхансеров или сайленсеров, сервисные, регуляторные или конценсусные сайты, 5´ и 3´ транскрибируемые, но не транслируемые участки транскрипта) нуклеотидных последовательностях ДНК. При типах мутаций, описанных выше, фенотипические эффекты наблюдаются при изменении в молекуле ДНК одного нуклеотида или в биспирали ДНК 1 п.н. Это позволяет в качестве элементарной единицы мутационного процесса (**мутон**) считать отдельно взятый нуклеотид или пару нуклеотидов.

Относительно недавно стали выделять еще одну группу генных **мутаций** на основе общности молекулярного механизма, состоящего в прогрессивном росте числа (**экспансия**), в основном **тринуклеотидных тандемных повторов** в регуляторной (нетранслируемой) или смысловой (транслируемой) частях генов. В функционально-генетическом плане эти мутации относят к категории **«динамических»**, поскольку фенотипический эффект они дают после того, как количество повторов достигнет и превысит определенный критический минимум. Состояние, при котором в гене есть нуклеотидные тандемные повторы, но число их меньше критического, рассматривают как **«премутацию»**. Наличие последней делает (ген)аллель-носитель нестабильным, что способствует переходу «премутации» в полную мутацию. Для рассматриваемой категории мутаций характерно явление **антиципации**, т. е. утяжеления клинических проявлений и более раннего начала заболевания в ряду поколений в пределах одной родословной в связи с ростом числа повторов (нарушение принципа «все или ничего»). Наиболее известны тринуклеотидные повторы, хотя описаны и другие формы, например двенадцатинуклеотидные и даже более. Предположительно к мутациям по типу экспансии тринуклеотидных повторов ведет нарушение функции фермента ДНК-полимеразы в последовательных мейотических и митотических циклах. Элементарной единицей (**мутон**) мутагенеза такого рода на генном уровне является триплет нуклеотидов или последовательность из 3 п.н. в биспирали ДНК, а не отдельный нуклеотид или 1 п.н. (генные мутации по типу замены нуклеотидов или сдвига «рамки считывания»).

Мутации по типу **замены нуклеотидов** происходят в силу разных причин. Одна из них заключается в том, что под влиянием определенных химических агентов или без видимой физико-химической причины изменяется азотистое основание нуклеотида, уже включенного в молекулу ДНК. Если такое искажение молекулярной структуры ДНК не устраняется механизмами молекулярной репарации (см. п. 2.4.5.3-а), то в ближайшем цикле репликации к измененному нуклеотиду присоединится нуклеотид, комплементарный именно ему, а не тому, который занимал соответствующее место в молекуле ДНК до изменения. В итоге возникает новая пара нуклеотидов, что приводит к искажению биоинформации в рассматриваемом участке биспирали ДНК. Так, вследствие дезаминирования цитозина цитидиловый нуклеотид в паре Ц-Г превращается в уридилиловый, комплементарным которому является адениловый нуклеотид. В

силу отмеченного при ближайшей репликации образуется пара У-А (рис. 4.5, I), а при следующей - возникает биспираль с парой А-Т вместо пары Ц-Г. Замена пары Ц-Г на пару А-Т происходит также в том случае, если цитозин оказывается метилированным по 5-му углеродному атому. Дезаминируемый 5-метилцитозин превращается в тимин (рис. 4.5, II), который в ближайшем репликационном цикле дает пару с аденином. Известны примеры включения в строящуюся цепь ДНК нуклеотида с химически измененным азотистым основанием или его аналогом. Если ошибка не обнаруживается, то участие ошибочно включенного «неправильного» нуклеотида в последующих репликационных циклах приводит к замене в соответствующих участках двойной спирали ДНК нормальной пары нуклеотидов на другую, что сопряжено с искажением биоинформации. Так, к адениловому нуклеотиду материнской цепи ДНК может присоединиться нуклеотид не с тиминном, а с 5-бромурацилом (5-БУ). При репликации нуклеотид с 5-БУ обычно присоединяет не аденило-вый, а гуаниловый нуклеотид. В следующем репликационном цикле гуаниловый нуклеотид образует пару с цитидиловым. В итоге пара А-Т заменяется парой Г-Ц (рис. 4.6).

Из приведенных примеров видно, что замены нуклеотидов в ДНК происходят до или в процессе репликации первоначально в одной полинуклеотидной цепи. Если эти изменения не исправляются, то в ходе последующих репликаций они становятся достоянием обеих полинуклеотидных цепей биспирали ДНК. Из сказанного следует, что важным источником генных мутаций по типу замены нуклеотидов являются нарушения процессов репликации и репарации ДНК.

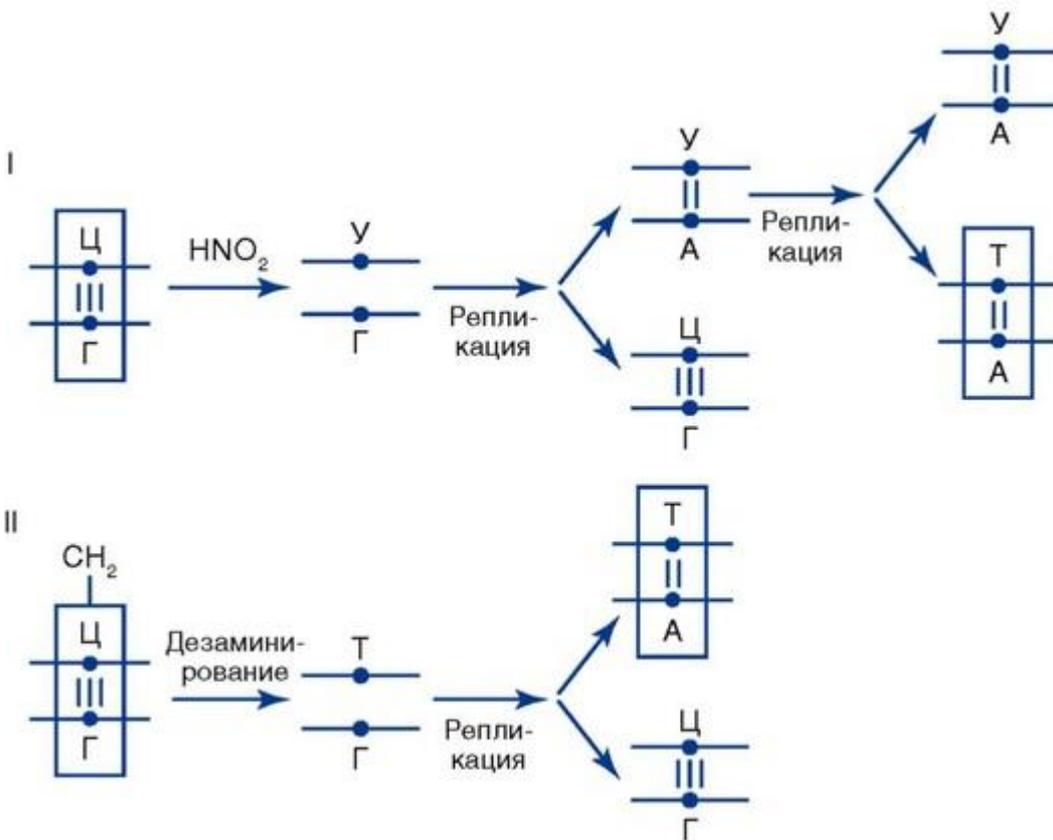


Рис. 4.5. Мутации по типу замены основания (дезаминирование азотистых оснований в молекуле ДНК): I - превращение цитозина в урацил вследствие дезаминирования, замена пары Ц-Г на пару Т-А; II - превращение метилцитозина в тимин, замена пары Ц-Г на пару Т-А

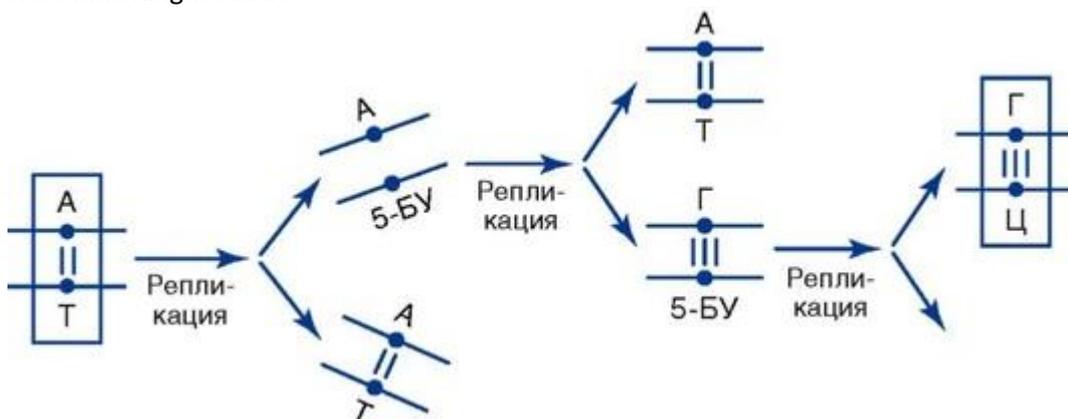


Рис. 4.6. Мутация по типу замены основания (ошибочное включение химического аналога тимина 5-бромурацила при репликации ДНК)

Следствием замены одного нуклеотида в макромолекуле или 1 п.н. в биспирали ДНК является образование нового триплета в нуклеотидной последовательности, кодирующей последовательность аминокислот в полипептиде. В силу вырожденности генетического кода в 25% таких замен возникает триплет-синоним, что не дает изменений аминокислотной последовательности в соответствующем полипептиде. 2-3% замен ведут к образованию триплетов-терминаторов (стоп-кодонам), что фенотипически проявляется в трансляции на мутантных и(м)РНК укороченных полипептидов. Еще один вариант генных мутаций по типу замены нуклеотидов приводит к появлению триплетов, шифрующих другие аминокислоты, которые, однако, характеризуются сходными физико-химическими свойствами, являясь, например, также гидрофобными. Это хотя и ведет к изменению аминокислотного состава полипептида, тем не менее не вызывает резкого изменения его характеристик (см. п. 2.4.5.3-а). Таким образом, генные мутации с полномасштабным фенотипическим эффектом составляют порядка 70-75% всех изменений макромолекулярной структуры ДНК, связанных с нуклеотидными заменами. В качестве примера приведем изменение в гене β -глобина аллеля А («дикий тип») гемоглобина человека на аллель серповидно-клеточности эритроцитов S (мутантный). Фенотипические проявления мутации, ведущее положение среди которых занимает болезнь «серпо-видноклеточная анемия», многообразны (см. рис. 4.3). Суть мутации сводится к замене второго нуклеотида (Т) в триплетах, кодирующих стоящую в β -полипептиде на 6-м месте глутаминовую кислоту (ЦТТ или ЦТЦ), на нуклеотид (А), превращающих их в триплеты, кодирующие аминокислоту валин (ЦАТ или ЦАЦ). Генные мутации по типу **сдвига «рамки считывания»** составляют немалую часть спонтанных (самопроизвольных, случающихся без очевидной причины) мутаций. Их число возрастает при действии некоторых химических соединений, в частности акридиновых. Выпадение нуклеотидных пар (делеция) на достаточно протяженных участках макромолекул ДНК типично для мутаций под действием рентгеновских лучей. У плодовой мухи, например, имеется мутация по типу делеции, вызываемая рентгеновским облучением и фенотипически проявляющаяся в изменении окраски глаз, при которой ген, ответственный за цвет глаз, теряет порядка 100 п.н. Действуя на фаг T4 химическим веществом профлавином, вызывают мутации, состоящие как в выпадении, так и во вставках нуклеотидных пар. При этом фенотипический эффект наблюдается, если в биспирали ДНК появляется или ею теряется всего 1 п.н.

Значительное количество вставок объясняется встраиванием в ДНК МГЭ (транспозонов).

С определенной вероятностью вставки и выпадения п.н. происходят вследствие ошибок рекомбинации, например, при неравном кроссинговере (рис. 4.7). Если вследствие неравного

кроссинговера в ген встраивается фрагмент псевдогена, говорят о **генной конверсии**. Такой вариант отражает суть большинства известных мутаций гена фермента 21-гидроксилазы, приводящих к развитию у человека адреногенитального синдрома (врожденная гиперплазия коры надпочечников).

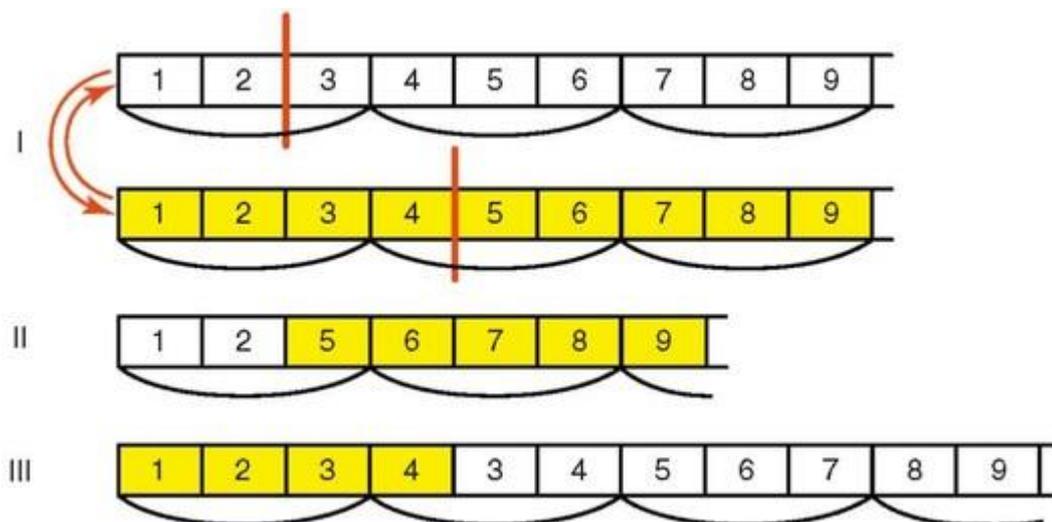


Рис. 4.7. Мутация со сдвигом «рамки считывания» вследствие неравноценного обмена наследственным материалом при внутригенном кроссинговере: I - разрывы аллельных генов в разных участках и обмен фрагментами между ними; II - выпадение 3-й и 4-й пар нуклеотидов, приводящее к сдвигу «рамки считывания»; III - удвоение 3-й и 4-й пар нуклеотидов, сдвиг «рамки считывания»

К выпадению или вставкам пар нуклеотидов приводят достаточно частые мутации в сайтах сплайсинга - на границе интронов и экзонов. Эти мутации проявляются в нарушении акта вырезания интронов из пре-и(м)РНК транскрипта. В результате созревающая и(м)РНК лишается части или всего экзона. Еще один возможный вариант - сохранение в и(м)РНК интронной нуклеотидной последовательности.

Считывание информации с ДНК - непрерывный процесс, т. е. ген транскрибируется одним блоком с началом в точке инициации и завершением в точке терминации (транскрибируемые, но не транслируемые и 3'-участки транскрипта в данном случае в расчет не принимаются, см. п. 2.4.5.5). Учитывая сказанное, а также свойство неперекрываемости генетического кода (см. п. 2.4.5.2), становится понятным, почему выпадения или вставки нуклеотидных пар, сдвигая «рамку считывания», ведут к изменению содержания генетической информации и, таким образом, представляют собой истинные мутации (рис. 4.8). Иногда следствием сдвига «рамки считывания» становится образование стоп-кодона, что приводит к синтезу укороченного полипептида. Если из биспирали ДНК теряются или в ней появляются дополнительно пары нуклеотидов, количество которых кратно трем, то сдвига «рамки считывания» не происходит (свойство триплетности генетического кода, см. п. 2.4.5.2). На уровне трансляции в таких случаях в образуемых полипептидах соответственно теряются или приобретаются дополнительные аминокислотные остатки.

Источник KingMed.info

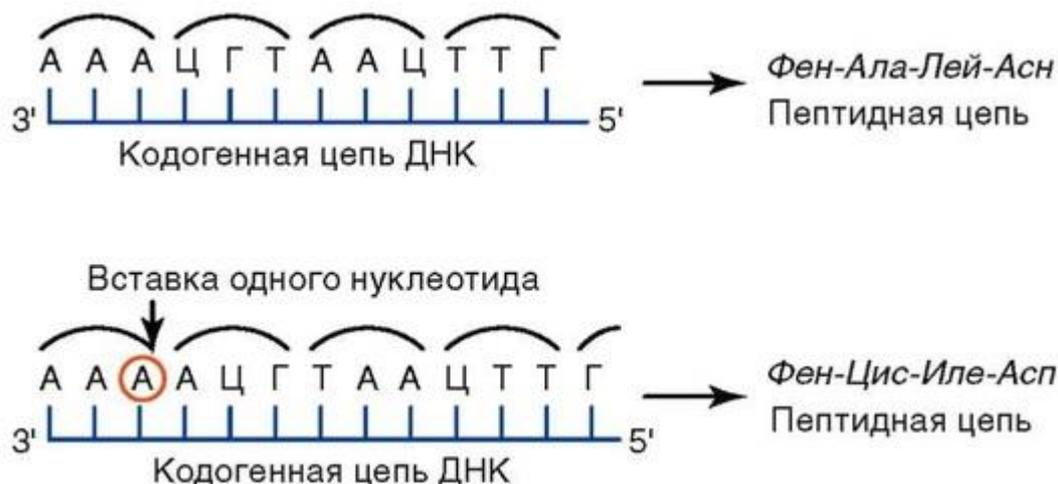


Рис. 4.8. Результат изменения числа нуклеотидных пар в биспирали ДНК. Сдвиг «рамки считывания» вследствие вставки одного нуклеотида в кодогенную цепь нуклеиновой кислоты приводит к изменению аминокислотного состава соответствующего полипептида

Мутации по типу **изменения положения определенного числа пар нуклеотидов в макромолекуле ДНК** происходят вследствие поворота участка нуклеиновой кислоты на 180° (**инверсия**). Обычно этому предшествует образование соответствующим участком ДНК петли, в пределах которой репликация происходит в направлении, обратном «правильному». На уровне трансляции это проявляется в частичном изменении порядка следования аминокислотных остатков в полипептиде, что меняет его функциональные свойства.

Мутации по типу **экспансии нуклеотидных повторов**, так же как и другие варианты генных мутаций, случаются как в транскрибируемых (информативных - экзоны), так и в нетранскрибируемых (неинформативных - интроны) частях генов, что накладывает свой отпечаток на фенотипические проявления. Так, экспансия тринуклеотида (триплета) ЦАГ, кодирующего аминокислоту глутамин, в транскрибируемой части генов до 40-80 повторов, не нарушая процессов транскрипции и трансляции, приводит к появлению в молекуле полипептида «трека» из соответствующего количества глутаминовых аминокислотных остатков. Такой увеличенный в размерах белок функционально дефектен. Мутации описанного типа лежат в основе развития наследственных нейродегенеративных патологий, в частности хореи Гентингтона («пляска святого Витта» - одним из ведущих клинических фенотипических проявлений является гиперкинез).

Если мутация локализуется в нетранскрибируемой части гена, то количество, например, ЦГГ-повторов, соответствующее пороговому значению, исчисляется сотнями и тысячами. Клинико-фенотипические проявления мутаций такого типа разнообразны: синдром Мартина-Белла (ломкая хромосома X) с классической триадой признаков - олигофрения, дисморфия (нарушения процессов морфогенеза в онтогенезе), макроор-хидизм.

Свои особенности имеют **мутации в ДНК митохондрий** (мтДНК или хромосома М), что в немалой степени объясняется отличиями в структуре как отдельных генов, так и всего генома названных органелл. Так, митохондриальные гены лишены интронов, а большинство транскрибируемых и(м)РНК лишены 5' и 3' нетранскрибируемых участков (см. п. 2.4.5.5). В сравнении с ядерным геномом митохондриальный геном характеризуется большей плотностью расположения генов в связи с меньшим содержанием межгенной ДНК. Специфика отличает репликацию мтДНК, которая происходит в два этапа. Триплет АУА в мито-хондриальных и(м)РНК, в отличие от образуемых на ядерных генах, кодирует не изолейцин, а метионин, триплет УГА не

Источник KingMed.info

выполняет функции стоп-кодона, шифруя аминокислоту триптофан, триплеты АГА и АГГ являются стоп-кодонами.

Митохондриальный геном содержит 22 гена для «собственных» тРНК, 2 - для «собственных» рРНК и 13 - для полипептидов, входящих в 5 надмолекулярных комплексов дыхательных цепей органеллы. Предположительно, 1100-1150 генов, участвующих в биоинформационном обеспечении структуры и функций митохондрий, находятся в ядерном геноме. Соотносительный вклад генов ядерной и митохондриальной локализации в биоинформационное обеспечение функционирования дыхательных комплексов митохондрий иллюстрирует табл. 4.1. Таких комплексов, представляющих собой мультигетеробелковые образования, пять (I-V). Каждый из них представлен совокупностью белковых субъединиц (полипептидов, простых белков или протеинов). Одна часть субъединиц образуется непосредственно в органеллах под контролем митохондриальных генов (мтДНК), тогда как другая - в цитоплазме клетки под контролем ядерных генов (ядДНК). Названные комплексы решают различные специфические задачи в рамках процесса окислительного фосфорилирования (дыхательный обмен, аэробный синтез АТФ, см. п. 2.4.6.1).

Таблица 4.1. Биоинформационное обеспечение функционирования митохондриальной дыхательной цепи. Взаимодействие ядерного и митохондриального геномов

Дыхательный комплекс	I	II	III	IV	V
Общее число субъединиц	42	4	11	13	14
Субъединицы, кодируемые ядерными генами (ядДНК)	35	4	10	10	12
Субъединицы, кодируемые митохондриальными генами (мтДНК)	7	0	1	3	2

Все митохондрии эукариотической клетки наследуются по материнской линии, т. е. через цитоплазму яйцеклетки. За редким исключением (зрелые эритроциты млекопитающих и человека) каждая клетка содержит десятки и сотни копий мтДНК.

С учетом сказанного, митохондриальные болезни, в патогенезе которых ведущая роль принадлежит мутационным изменениям, принято делить на 3 группы. Это фенотипические патологические проявления, обуславливаемые, во-первых, мутациями ядерных генов, во-вторых, изменениями непосредственно в мтДНК и, в-третьих, нарушением так называемых **межгеномных сигнальных эффектов**. В первом случае развиваются митохондриальные болезни с аутосомно-доминантным или аутосомно-рецессивным типом наследования (классическое моногенное менделевское наследование). Характерным проявлением поражений соответствующих сайтов ДНК как ядерной, так и митохондриальной локализации (делеции, точковые генные мутации, делеции в сочетании с дупликациями) является пониженный уровень энергоснабжения тканей и органов. Нарушения межгеномных сигнальных эффектов связаны с мутациями ядерных генов-регуляторов. Фенотипически они могут проявляться в изменении количества копий митохондриальной ДНК - **деплеция (истощение)** митохондриального генетического аппарата - и приводить к тканеспецифическим делециям или дупликациям мтДНК. Типичным представляется присутствие в клетке одновременно митохондрий с мутировавшей мтДНК и «генетически здоровых» органелл со случайным от клетки к клетке количественным соотношением, что определяет вариабильность клинической картины. Вклад в фенотипическую изменчивость, особенно в этих случаях, вносит различная чувствительность клеток разных тканей и структур организма к кислородной недостаточности.

Относительно высокая «поражаемость» мтДНК объясняется тем, что в процессе наработки энергии в органелле (т. е. в непосредственном окружении ДНК органеллы) закономерно

Источник KingMed.info

образуются АФК (см. п. 2.4.8), а также тем, что митохондрии отличаются более низкой, в сравнении с клеточными ядрами, эффективностью механизмов репарации макромолекул нуклеиновой кислоты в случае их повреждения.

Представления о мутационном процессе (**мутагенез**), которые были сформулированы в основном классической (домолекулярной) генетикой, уточняются, дополняются и переосмысливаются в свете научных данных современной (в том числе молекулярной) генетики, геномики, протеомики и метаболомики, цитомики и клеточной биологии (см. п. 1.1).

Действительно, изменения нуклеотидных последовательностей ДНК происходят не только в биоинформационных участках (экзоны) смысловых транскрибируемых и транслируемых генов, но и в области интронов, промоторов и энхансеров, в сайтах, кодирующих транскрипционные и ростовые факторы, цитокины и рецепторы к ним, в участках, представленных в геномах избыточной ДНК и нуклеотидными повторами разного формата, имеющими различную макромолекулярную организацию (см. п. 2.4.3.4-в, 2.4.3.4-д, 2.4.5.5). В связи с появлением нового семейства «динамических» генных мутаций приходится вносить уточнения в представления об элементарной единице мутагенеза (**мутон**) на генном уровне структурно-функциональной организации генетического аппарата эукариот (см. здесь же, выше).

В соответствии с представлениями классической генетики частота генных (точковых) спонтанных (самопроизвольных, случающихся без видимой причины - см. п. 4.3.1.4) мутаций у всех живых форм составляет в среднем 10^{-5} - 10^{-7} изменений на один локус нуклеиновой кислоты (в другой редакции - на одну гамету) за поколение. Приводимые значения носят ориентировочный характер. Известно, например, что в геномах живых форм, включая человека, имеются локусы (сайты, нуклеотидные последовательности ДНК), различающиеся по интенсивности спонтанного мутагенеза на 1-3 порядка. В связи с этим предлагается считать, что у людей частота спонтанно возникающих генных мутаций выражается цифрой 10^{-11} для наиболее устойчивых участков генома, тогда как для высокомутабильных сайтов («горячие» точки мутагенеза) - 10^{-4} изменений на локус (гамету) за поколение.

4.3.1.4. Функционально-генетическая классификация генных мутаций

Генные мутации классифицируют по ряду оснований.

Большинство изменений макромолекулярной структуры генов фено-типически неблагоприятно (классификация по влиянию на жизнеспособность и/или плодовитость особей) - **вредные генные мутации**. Среди них выделяют **летальные** и **полумлетальные мутации**. Первые несовместимы с жизнью в принципе, вторые ограничивают жизнеспособность организма настолько, что он, как правило, не способен достичь возраста половой (репродуктивной, биологической) зрелости, принять участие в размножении и, таким образом, передать свои гены (аллели) организмам следующего поколения.

Закономерен вопрос, почему вновь возникающие мутации обычно вредны. Здесь не следует забывать, что структурно-функциональная организация геномов клеток и организмов носит системный характер. С одной стороны, мутационные изменения закономерны, т. е. они происходят у всех живых форм без исключения регулярно с частотой в среднем 10^{-5} - 10^{-7} мутаций на один локус за поколение. С другой - мутационные изменения случайны в том смысле, что практически невозможно предсказать, когда, какой ген и с какими биоинформационными (фенотипическими) последствиями мутирует. Важно, однако, то, что мутируют гены, встроенные в систему функционально взаимодействующих и взаимовлияющих генов (нуклеотидных последовательностей, сайтов ДНК). В таких условиях каждая мутация, чтобы не нести в себе

Источник KingMed.info

неблагоприятные фенотипические последствия, должна с момента своего возникновения удовлетворять «правилам», по которым существует система генома (см. п. 4.3.1.1, генотипическая или среда 1-го порядка).

Редко случаются изменения генов с благоприятными фенотипическими последствиями - **полезные генные мутации**. Известны **нейтральные генные мутации**, не сказывающиеся на жизнеспособности и репродуктивном потенциале.

Большинство вновь возникающих мутаций (классификация по проявлению в гетерозиготном состоянии) дает **рецессивный** аллель, который, будучи по своим фенотипическим последствиям обычно вредным, у диплоидных эукариот на некоторое время укрыт от действия естественного отбора в гетерозиготах. Предположительно именно это сыграло ведущую роль в формировании **резерва наследственной изменчивости**. Реже аллели, образуемые вследствие мутации, проявляют свойства **доминантности** или **кодоминирования** (см. п. 4.3.1.2).

Генетики начала и середины XX в. выделяли **спонтанные** (самопроизвольные, случающиеся без видимой причины) и **индуцированные** (вызываемые факторами известной природы - химические соединения, ионизирующее излучение, биологические агенты, в частности вирусы) мутации - классификация по происхождению. На настоящий момент актуальность приведенной классификации, с одной стороны, несколько снизилась в связи с тем, что многое стало известно о природе факторов спонтанного мутагенеза - активные формы кислорода, ионизирующее излучение космического происхождения, внутриклеточные тепловые колебания. С другой стороны, в связи с появлением значительного количества производимых промышленностью мутагенов, в число которых входят удобрения, инсектициды и пестициды, лекарства, средства борьбы с бытовыми насекомыми и другие химические вещества, а также все более широко используемые в быту приборы и устройства, эксплуатация которых связана с электромагнитными и другого рода излучениями, осознается необходимость мониторинга присутствия и концентрации в среде жизни людей факторов, индуцирующих мутагенез.

Различают также мутации **прямые** (классификация по направлению), которые переводят аллель «дикого типа» в мутантный аллель, и **обратные (реверсии)**, возвращающие мутантный аллель в аллель «дикого типа», **биохимические, морфологические, физиологические, поведенческие** и др. (классификация по фенотипическому проявлению), **цитоплазматические** (митохондриальные, в клетках растений - также пластидные) и **ядерные** (классификация по локализации в клетке изменяемого генетического материала).

Принципиально деление мутаций на **генеративные**, случающиеся в половых клетках, и **соматические**, затрагивающие генетический аппарат соматических клеток (классификация по месту возникновения и характеру наследования). Мутации различного ранга (генные, хромосомные, геномные), возникающие в соматических клетках, наследуются потомками этих клеток, что делает организм **генотипическим мозаи-ком**, т. е. особью со смешанными клеточными популяциями, которые содержат как генетически нормальные, так и мутировавшие клетки.

Хотя классическая генетика, учитывавшая интересы биологов-эволюционистов, а также в связи с задачами МГК, в большей мере ориентировалась на генеративные мутации, в настоящее время именно соматические мутации представляют приоритетный интерес, например, для онкологии (см. п. 3.1.4).

4.3.1.5. Биологическое значение генного уровня организации генетического аппарата

Источник KingMed.info

Свойство дискретности генетического материала (см. п. 4.2, Г. Мендель) подразумевает делимость этого материала на отдельные (корпускулярный характер) - гены, которые служат элементарными функционально-генетическими единицами, т. е. обеспечивают возможность наследования и изменений признаков организма порознь, их независимое комбинирование в фенотипах особей.

Благодаря наличию генного уровня стал возможен научно-экспериментальный анализ закономерностей наследования и изменения отдельных признаков и их ассоциаций, была вскрыта химическая природа и описаны макромолекулярные и надмолекулярные свойства непосредственного носителя генетических функций - ДНК (см. п. 4.2, О.Т. Эйвери; Дж. Уотсон, Ф. Крик и М. Уилкинс; Х.Г. Корана и М.У. Ни-ренберг), установлен ряд законов наследственности и изменчивости, сформулированы представления о гено(аллело)фондах популяций организмов, понято значение их изменений для процесса исторического развития (эволюция), в частности видообразования (см. п. 4.2, С.С. Четвериков).

4.3.2. ХРОМОСОМНЫЙ УРОВЕНЬ ОРГАНИЗАЦИИ ГЕНЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА

На хромосомном уровне структурно-функциональной организации генетического аппарата решается ряд специфических, только этому уровню присущих задач проявления свойств наследственности и изменчивости в процессах жизнедеятельности, в размножении, в индивидуальном и историческом развитии эукариот. Во-первых, хромосомный принцип построения генетического материала решает задачу разделения возросшего при переходе к эукариотическому типу клеточной организации количества ДНК на отдельные части с целью оптимизации репликации ДНК и передачи без количественных и качественных потерь биоинформации в ряду поколений клеток и организмов, размножающихся половым путем (см. митоз и мейоз). Во-вторых, распределение генов (сайтов, нуклеотидных последовательностей ДНК разной функционально-генетической направленности) между хромосомами создает предпосылки для их сцепленного наследования (см. п. 4.3.2.1). В-третьих, в эволюции переход к распределению ДНК клетки между хромосомами совпадает с изменением формы молекул ДНК с кольцевой на линейную. Это создает новые возможности в решении задачи регуляции генетических функций. Уместно вспомнить механизм «спирализация-деспирализация» не только целых геномов, но отдельных хромосом (дозовая компенсация по генам хромосомы X гомогаметного пола относительно гетерогаметного пола, у человека - женского), а также их участков (см. п. 2.4.3.4-в). Линейность молекул ДНК способствует тому, что генетический материал эукариотической клетки исходно существует в репрессированном состоянии благодаря комплексу ДНК с белками щелочного характера (гистоны). То, что названный комплекс имеет нуклеосомную организацию, создает дополнительные возможности тонкой регуляции генетических функций ДНК. В-четвертых, речь идет об использовании биоинформации частями благодаря механизмам регуляции с участием белков кислого характера - негистоновых, к семейству которых относится большинство транскрипционных факторов. Новейшие данные свидетельствуют о большой роли в регуляции генетических функций на макромолекулярном уровне белок-белковых взаимодействий. На этой основе функционирует, в частности, инициаторный мультигетеробелковый комплекс, запускающий с промотора транскриптона процесс транскрипции генов в эукариотических клетках (см. п. 2.4.5.5). В-пятых, важная роль в функционировании структурных (экспрессируемых, транскрибируемых и транслируемых) генов, принадлежит закономерному пространственному взаиморасположению хромосом в клеточном ядре. Предположительно механизмом, который ведет к этому, является взаимодействие теломерных (см. п. 2.4.3.4-г) участков хромосом со структурами ядерного матрикса (см. п. 2.4.3.2) и ядерной ламинной (см. п. 2.4.3.1).

Источник KingMed.info

Специфический вклад хромосомного уровня структурно-функциональной организации генетического аппарата в изменчивость заключается, с одной стороны, в том, что независимая комбинация негомологичных хромосом отцовского и материнского происхождения в анафазе первого деления мейоза при образовании половых клеток представляет собой эффективный механизм комбинативной генотипической изменчивости. С другой стороны, уместно вспомнить, что диплоидный набор у человека представлен 46 хромосомами, тогда как у шимпанзе - 48 хромосомами. Сравнительный анализ кариотипов показывает, что хромосома 2 людей произошла, видимо, в результате слияния двух мелких акроцентрических хромосом обезьяноподобного предка. Во всяком случае два плеча хромосомы 2 человека соответствуют по нуклеотидным последовательностям двум разным хромосомам современных человекообразных обезьян: 12 и 13 - шимпанзе, 13 и 14 - гориллы и орангутан(г)а. Человеческая хромосома 9 длиннее соответствующей хромосомы шимпанзе, а хромосома 12 короче, на хромосомах 1 и 18 людей имеются протяженные инверсии в сравнении с одноименными хромосомами шимпанзе. Зарегистрирован также ряд перичентрических инверсий (хромосомы 4, 5, 12 и 17), не меняющих генный состав хромосом (групп сцепления), но, возможно, создающих эффект положения. Наибольшие различия между человеком и шимпанзе касаются не структурных генов, а хромосом.

Хромосомные перестройки (мутации) вследствие нарушения мейоза способны сразу привести к репродуктивной изоляции, которая согласно современным представлениям является необходимым условием процесса видообразования.

4.3.2.1. Хромосомная теория наследственности. Основные положения

Хромосомы как особые ядерные структуры открыты во второй половине XIX в. (см. п. 4.2, В. Вальдейер). В это же время было высказано предположение о том, что они имеют отношение к явлению наследственности (см. п. 4.2, А. Вейсман). В начале XX в. предположение А. Вейсмана нашло убедительное подтверждение (см. п. 4.2, Т. Бовери, У. Сеттон), а генетика как наука благодаря результатам исследований Т.Г. Моргана и его коллег, обобщенным в виде **хромосомной теории наследственности**, обогатилась новыми сведениями о закономерностях наследования признаков (см. п. 4.2, Т.Г. Морган).

Согласно этой теории, **гены** («наследственные задатки», по Г. Менделю) **расположены** в ядерных структурах - **хромосомах** (но: см. митохондриальный геном). Каждая хромосома характеризуется **уникальным и постоянным генным составом**. **В хромосоме гены** располагаются **друг за другом линейно**. Гены одной хромосомы нередко передаются (наследуются) в ряду поколений сцеплено друг с другом, что послужило основанием рассматривать каждую хромосому как отдельную **группу сцепления** генов. **Сила сцепления**, проявляющаяся в возможности генов хромосомы наследоваться совместно, **для разных генов** группы сцепления **варьирует, и тем меньше, чем больше расстояние** между ними в хромосоме.

Если иметь в виду, что при образовании половых клеток в профазе первого деления мейоза гомологичные хромосомы обмениваются участками (**рекомбинация** путем **кроссинговера**), причем частота таких обменов для каждой пары генов (локусов) - величина постоянная и может быть представлена в процентах половых клеток с признаками прошедшего кроссинговера (кроссоверные гаметы, см. п. 4.3.5.2), указанное генетическое явление можно использовать для определения порядка расположения генов по длине хромосомы, а также расстояния между генами, т. е. для составления **генетических карт хромосом**. Расстояние между парой генов на генетической карте выражается в морганидах

Источник KingMed.info

- **M** (в зарубежной генетической литературе более часто используют термин **сантиморганиды** - **сМ**). Если два гена расположены в хромосоме на расстоянии в одну морганиду (сантиморганиду), это означает, что **кроссинговер** между ними случается (т. е. эти гены рекомбинируют) **в 1%** делений клетки. Гены одной группы сцепления, если они располагаются в хромосоме на расстоянии в 50 морганид (сан-тиморганид) и более, наследуются независимо друг от друга. Благодаря новым методическим возможностям в настоящее время осуществляется составление **физических карт хромосом**, характеризующихся в сравнении с генетическими картами большей разрешающей способностью. Расстояние между анализируемыми сайтами ДНК (генами) при физическом картировании выражается в парах нуклеотидов. Генетическое расстояние в 1 *M(сМ)* соответствует физической дистанции примерно в 1 млн п.н. или 1 мегабазе - *Мб (Mb)*. Составление полных физических карт хромосом является главной целью проекта «Геном человека».

Хромосомная теория не противоречит представлениям о корпускулярной природе генов и вытекающим из этого правилам (закономерностям) **независимого наследования признаков**, установленным Г. Менделем. Вместе с тем она указывает на существование в природе совместного или **сцепленного наследования**, вытекающего из факта расположения генов в хромосомах.

При этом необходимо различать сцепленное наследование как таковое и **наследование, сцепленное с полом**. В первом случае речь идет о совместной передаче в процессе полового размножения от родителей потомству генов, располагающихся в одной группе сцепления (в хромосоме, в том числе в аутосоме). Во втором случае речь идет о наследовании потомством генов, располагающихся в половых хромосомах, у человека - X и Y.

4.3.2.2. Изменения структурной организации хромосом. Хромосомные мутации

Несмотря на эволюционно отработанный механизм сохранения постоянной физико-химической и морфологической организации хромосом в ряду клеточных поколений, эта организация может изменяться. В основе изменения структуры хромосом, как правило, лежат первоначальные изменения их целостности - разрывы, приводящие к разного рода перестройкам. **Хромосомные перестройки** называются **хромосомными мутациями** или **хромосомными аберрациями**.

С одной стороны, разрывы происходят закономерно в мейозе в связи с кроссинговером и сопровождаются обменом взаимосоответствующими участками между гомологичными хромосомами. Нарушения хода кроссинговера, приводящие к обмену количественно неравнозначными участками наследственного материала (ДНК), приводит к образованию новых по генному составу групп сцепления, характеризующихся либо утратой (**делеция**), либо удвоением (**дупликация**) определенных сайтов (нуклеотидных последовательностей, генов). С другой стороны, разрывы хромосом могут вызываться воздействием на них мутагенов. Наиболее часто в роли мутагенов выступают физические факторы (ионизирующие излучения), химические соединения, вирусы. Иногда нарушение структурной целостности хромосомы сопровождается поворотом участка между двумя разрывами на 180° с последующим встраиванием этого участка в хромосому - **инверсия**. В зависимости от того, включает ли инвертируемый участок центромеру или нет, различают соответственно **перичентрические** и **парацентрические инверсии**. Если участок, отделившийся от хромосомы вследствие ее разрыва, лишен центромеры, он может быть утрачен клеткой при очередном митозе. Нередко, однако, такой участок прикрепляется к другой хромосоме - **транслокация**. Часто две поврежденные негомологичные хромосомы обмениваются отделившимися от них участками - **реципрокная транслокация**. Если оторвавшийся участок присоединяется к своей же хромосоме, но в новом

месте, говорят о **транспозиции** (рис. 4.9). Известны примеры транслокаций целых хромосом. Так, синдром Дауна имеет несколько цитогенетических форм. У одной части пациентов с этим синдромом определяются три отдельных хромосомы 21, у другой части «лишняя» хромосома 21 транслоцирована на другую хромосому (такая хромосома приобретает необычно большие размеры и изменяет форму, см. рис. 4.24).

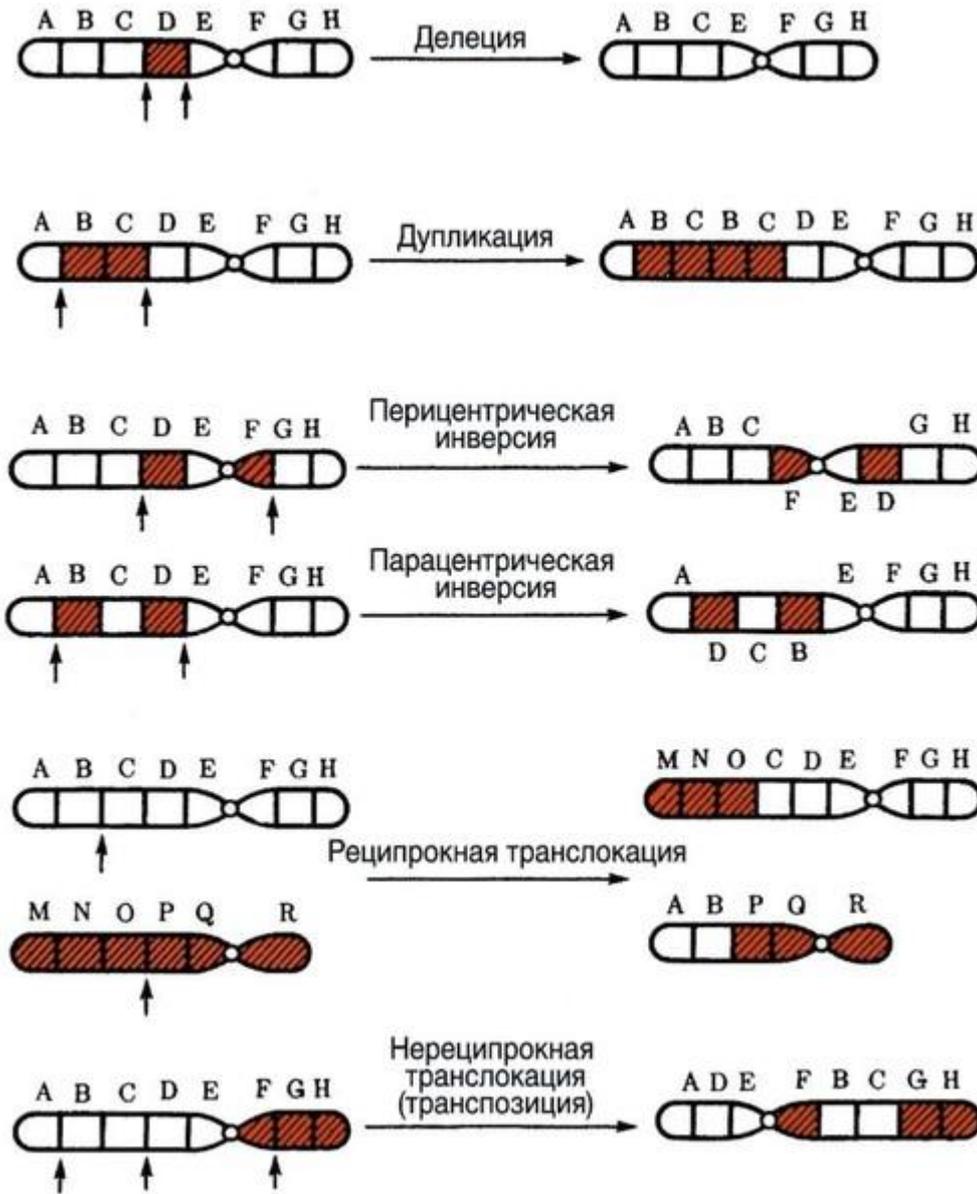


Рис. 4.9. Виды хромосомных перестроек

Очевидно, что инверсии и транслокации ведут к изменению локализации соответствующих нуклеотидных последовательностей (генов, сайтов).

Хромосомные aberrации (мутации, перестройки) обычно проявляются в изменении морфологии хромосом, что можно наблюдать с помощью микроскопа (цитогенетический метод генетического анализа). Метацентрические хромосомы становятся субметацентрическими и/или акроцентрическими и, наоборот, возникают кольцевые и полицентрические хромосомы (рис. 4.10, 4.11). Особая категория хромосомных мутаций - aberrации, связанные с центрическим слиянием или разделением хромосом. В таких случаях две негомолгичные хромосомы

«объединяются» в одну - **робертсоновская транслокация**, или из одной хромосомы образуются две самостоятельных (рис. 4.12). При мутациях описанного типа появляются хромосомы с новой морфологией, может изменяться число хромосом в кариотипе.

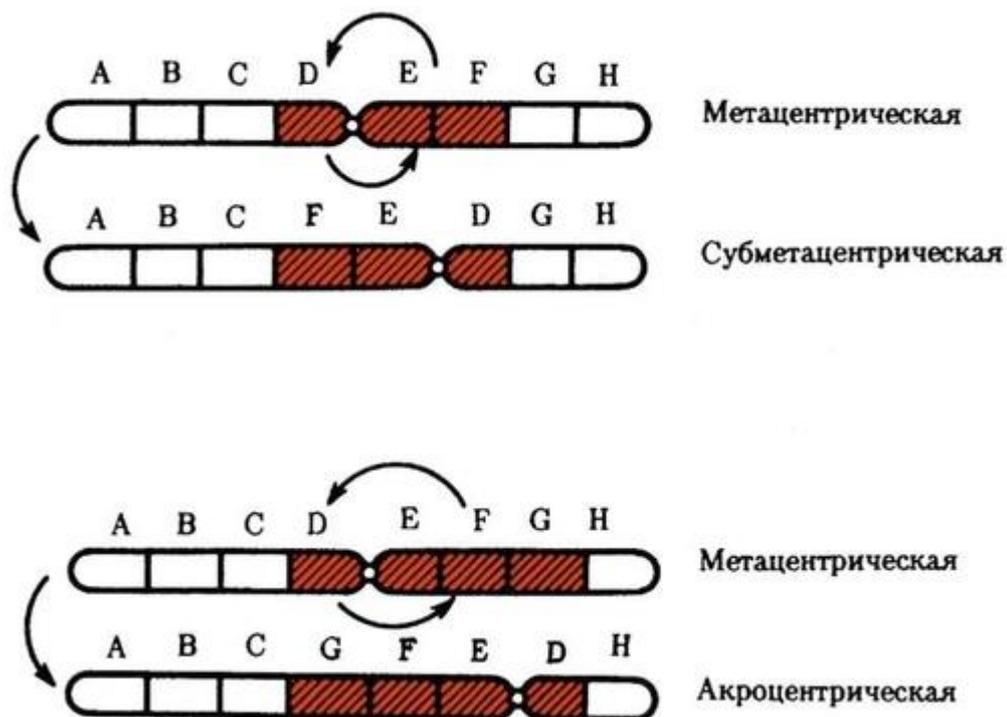


Рис. 4.10. Изменение формы хромосом вследствие перичентрических инверсий

Хромосомные мутации обычно сопровождаются изменениями в генетической программе, наследуемой дочерними клетками после деления материнской. При делециях и дупликациях нарушается количество соответствующих сайтов (генов) в сторону уменьшения или увеличения, тогда как при инверсиях, транспозициях и транслокациях меняют-

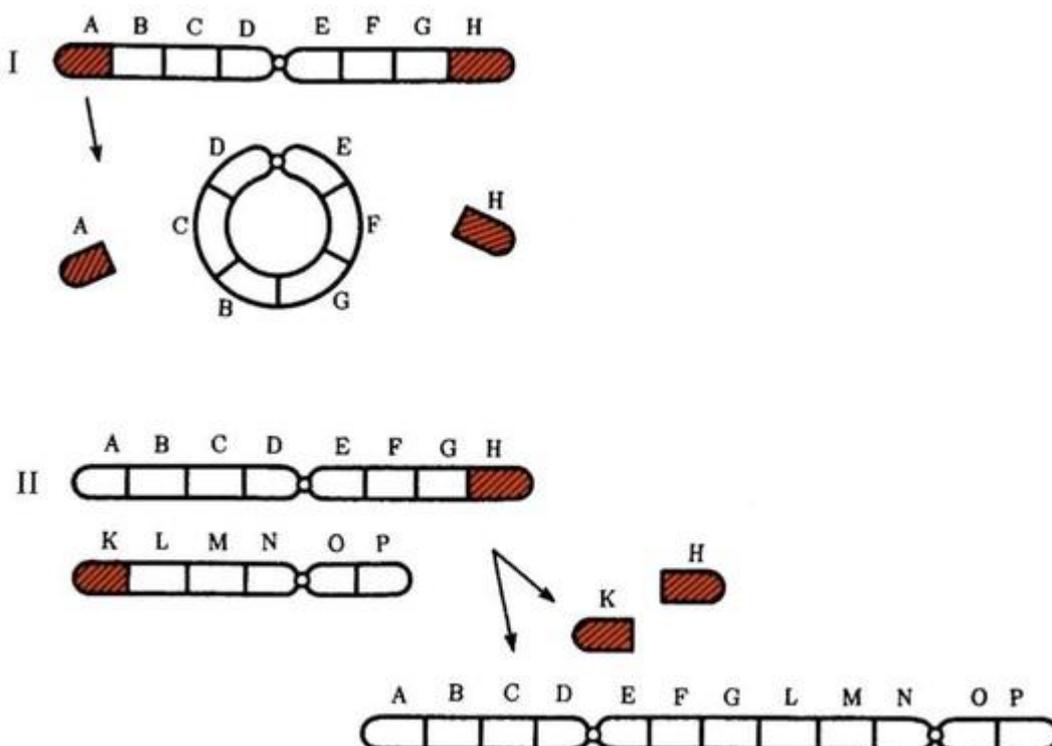


Рис. 4.11. Образование кольцевых (I) и полицентрических (II) хромосом

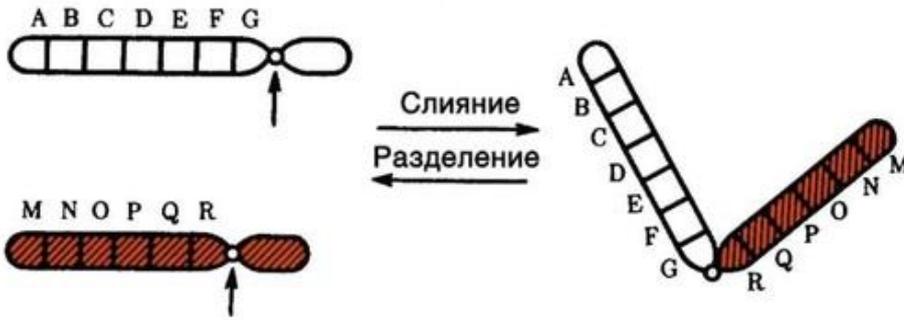


Рис. 4.12. Хромосомные перестройки, связанные с центрическим слиянием или разделением хромосом. Являются причиной изменения числа хромосом в кариотипе

ся либо условия и, таким образом, характер функционирования в связи с изменением взаиморасположения нуклеотидных последовательностей (генов, сайтов) в хромосоме, либо состав групп сцепления. Чаще структурные перестройки хромосом соматических клеток сказываются на их жизнеспособности отрицательно (**соматические хромосомные мутации**). Нередко такие перестройки указывают на возможность малигнизации. Серьезные последствия имеют хромосомные aberrации в клетках-предшественницах половых клеток (**генеративные хромосомные мутации**), что нередко сопровождается нарушением конъюгации гомологичных хромосом и их нерасхождением в дочерние клетки в мейозе. Делеции и дупликации участка одной из гомологичных хромосом сопровождаются при конъюгации образованием гомологом петли с количественно неравноценным наследственным материалом (рис. 4.13). Реципрокные транслокации между двумя нехомологичными хромосомами приводят при конъюгации к возникновению не бивалента, а квадриллента с образованием благодаря взаимному притягиванию гомологичных участков, расположенных в разных хромосомах, фигуры креста (рис. 4.14). Участие в реципрокных транслокациях не двух, а большего числа хромосом с возникновением уже не квадриллента, а поливалента приводит к формированию при конъюгации более сложных структур (рис. 4.15). При инверсиях бивалент, возникающий в профазе I мейоза, образует петлю, включающую взаимно инвертированный участок (рис. 4.16).

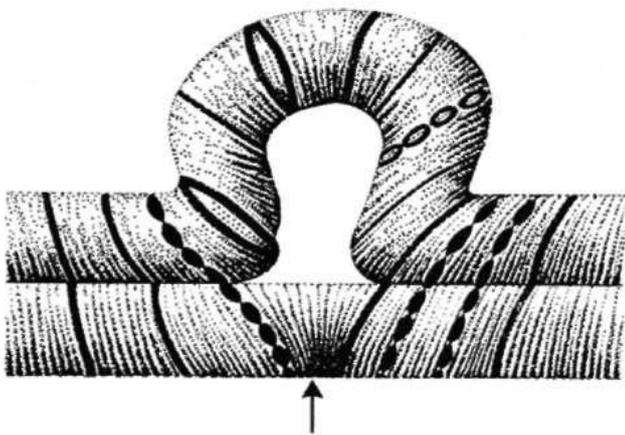
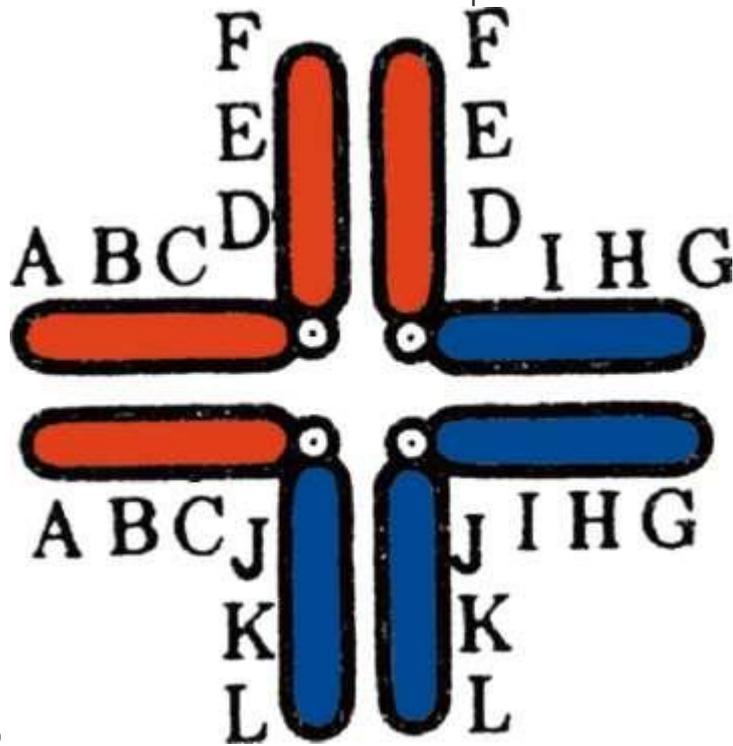


Рис. 4.13. Петля, образуемая при конъюгации гомологичных хромосом, которые несут неравноценный наследственный материал в соответствующих участках вследствие хромосомной aberrации

Источник KingMed.info

Конъюгация и последующее расхождение структур, образованных измененными хромосомами, способствуют появлению новых хромосомных перестроек. В результате гаметы, получая неполноценный наследственный материал, не способны обеспечить нормальное развитие особи нового поколения.

Несмотря на неблагоприятные в целом последствия генеративных хромосомных мутаций, в тех случаях, когда они оказываются совместимыми с развитием и жизнью организма, такие мутации



через эволюцию

Рис. 4.14. Образование при конъюгации квадривалента из двух пар хромосом, несущих реципрокную транслокацию

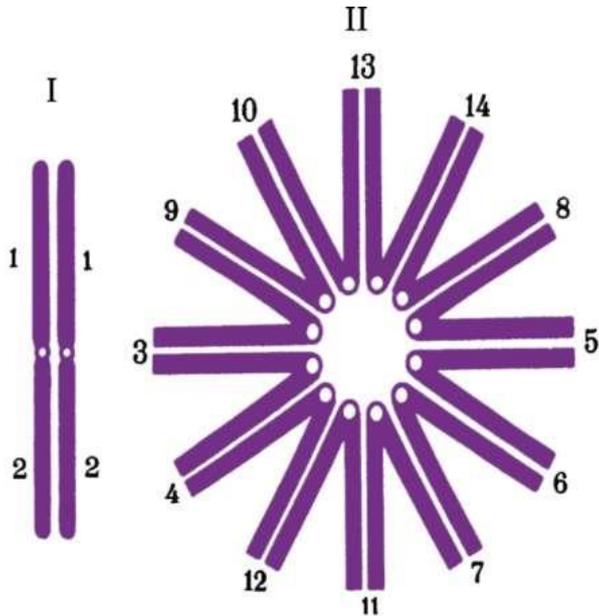


Рис. 4.15. Образование при конъюгации поливалента шестью парами хромосом, участвующих в реципрокных транслокациях: I - конъюгация между парой хромосом, не несущих транслокацию; II - поливалент, образуемый шестью парами хромосом, участвующих в транслокации

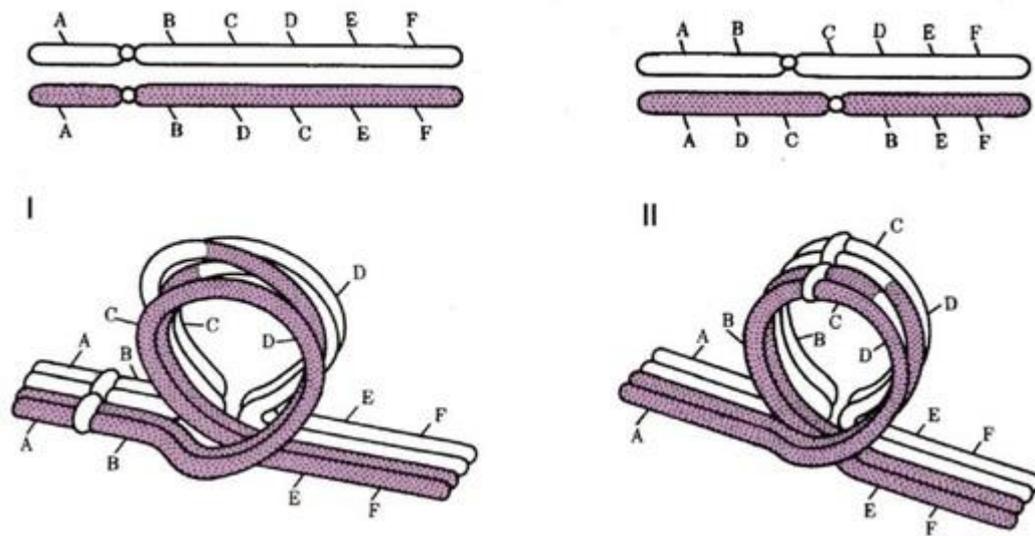


Рис. 4.16. Конъюгация хромосом при инверсиях: I - парацентрическая инверсия в одном из гомологов; II - перичцентрическая инверсия в одном из гомологов

структуры хромосом эффективно способствуют биологической эволюции (видообразованию). Даже делеции, если они незначительны по размерам, сохраняются в гетерозиготном состоянии в ряду поколений. Менее вредны, в сравнении с делециями, дупликации, хотя, если увеличение количества наследственного материала значительно (10% и более), организм, как правило, нежизнеспособен. Робертсоновские транслокации обычно совместимы с жизнью в силу того, что они не связаны с изменениями количества наследственного материала. Это, видимо, было «использовано» в интересах эволюции. О вероятности этого говорят различия числа хромосом в клетках организмов близкородственных видов, объясняемые слиянием или разделением хромосом. Так, у разных видов плодовых мух (дрозофила) количество хромосом в гаплоидных наборах варьирует от 3 до 6. О возможной роли хромосомных перестроек на уровне обезьяноподобного предка в эволюции человека см. п. 4.3.2.

4.3.2.3. Биологическое значение хромосомного уровня организации генетического аппарата

Хромосомный уровень структурно-функциональной организации генетического аппарата эукариотической клетки вносит свой специфический вклад в функционирование генов, характер наследования признаков потомками, регуляцию генетической активности.

Хромосомы как комплексы генов (сайтов, нуклеотидных последовательностей ДНК) представляют собой эволюционно сложившиеся структуры, обязательные для клеток всех особей данного вида. Немаловажная роль в особенностях функционирования генов принадлежит их взаимному расположению в хромосомах (в группах сцепления). Локализация гена в той или иной хромосоме, в частности в аутосоме, половых хромосомах X или Y, хромосоме M, определяет закономерности (правила) наследования соответствующего признака. Принадлежность генов к одной хромосоме обуславливает то более, то менее выраженный сцепленный характер наследования контролируемых ими признаков, тогда как расстояние между генами в хромосоме влияет на частоту рекомбинации указанных признаков в фенотипе потомства (см. п. 4.3.2.1). Напротив, локализация генов в разных хромосомах или в одной хромосоме, но на расстоянии в 50 морганид (сантиморганид) и более составляет основу независимого наследования признаков.

Источник KingMed.info

Вклад хромосомного уровня структурно-функциональной организации генетического аппарата эукариот в регуляцию генетической активности ДНК - см. п. 4.3.2. Устойчивое комплексование ДНК с основными белками-гистонами делает ее недоступной для взаимодействия с белками - обязательными участниками процесса транскрипции, например с РНК-полимеразой, транскрипционными факторами, энхан-серами. Предварительная декомпактизация хроматина также, видимо, является условием транскрипции биоинформации с соответствующего участка ДНК.

Возникновение в эволюции генетического аппарата при переходе к эукариотическому типу клеточной организации хромосомного уровня связано с возросшим количеством генетического материала. Распределение ядерной ДНК между ограниченным числом структур - хромосом - обуславливает упорядоченную пространственную организацию всей массы генетического материала по группам сцепления. Относительная самостоятельность хромосом в процессах редупликации и распределения между дочерними клетками в митозе и мейозе позволяет закономерно воспроизводить и передавать в ряду поколений без количественных потерь и качественных изменений (за редкими исключениями - см. п. 4.1.1, генотипическая изменчивость) значительные объемы жизненно важной биоинформации. Распределение генов (сайтов, конкретных по функционально-генетическим характеристикам нуклеотидных последовательностей ДНК) по группам сцепления делает возможной рекомбинацию генетического материала и, следовательно, соответствующей биоинформации, заключенной в гомологичных и негомологичных хромосомах, при мейозе и оплодотворении. Такая рекомбинация существенно увеличивает уровень генотипической комбинативной изменчивости, что само по себе является важным эволюционным фактором, обеспечивающим в каждом поколении наличие биоинформационно разнообразного наследственного материала и, следовательно, фенотипических вариантов для естественного отбора.

4.3.3. ГЕНОМНЫЙ УРОВЕНЬ ОРГАНИЗАЦИИ ГЕНЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА

Геном определяется как совокупность наследственного материала (генов, сайтов, нуклеотидных последовательностей ДНК) в гаплоидном наборе хромосом клеток организмов соответствующего биологического вида. Геном видоспецифичен, поскольку он отождествляется с полным набором генов, необходимых для формирования видовых характеристик организмов в процессе индивидуального развития (онтогенез).

Размер генома в определенной степени коррелирует с положением группы, к которой принадлежит соответствующий вид, в иерархической системе мира жизни. Так, размер генома прокариот не превышает 8×10^6 п.н., у дрожжей (одноклеточные эукариоты) этот размер равен $1,35 \times 10^7$ п.н., т. е. на порядок выше, у шпорцевой лягушки (*Xenopus laevis*), так же как у высших позвоночных (млекопитающие), на 2 порядка выше, чем у дрожжей, - 10^9 п.н. (см. также п. 1.5). Данные по геному человека см. в п. 2.4.3.4-д.

Большинство видов высших организмов диплоидны, т. е. в их соматических клетках одновременно представлено два генома. Один из них материнского, второй - отцовского происхождения (см. п. 4.3, генотип). В природе известны виды, представители которых способны размножаться **партеногенезом** - при отсутствии оплодотворения. В таких случаях, благодаря включению особого механизма, соматические клетки развивающегося зародыша диплоидны. Обычно оба генома, присутствующие в их ядрах, имеют материнское происхождение. В экспериментальных условиях получены зиготы, имеющие цитоплазму яйцеклетки и два генома отцовского происхождения. На вопрос о возможности партеногенетического развития человека

Источник KingMed.info

в настоящее время наука дает отрицательный ответ. Дело в том, что при отсутствии материнского генома (**диандрогенез**) образуются только провизорные структуры, но не внутренняя клеточная масса, клетки которой, собственно, и дают новый организм. Наоборот, при отсутствии отцовского генома (**дигиногенез**) провизорные структуры не образуются. Формируется лишь внутренняя клеточная масса. В обоих случаях зародыш нежизнеспособен. Для некоторых видов организмов на временной (в онтогенезе) основе возможны гаплоидные особи. Так, у определенных видов насекомых пол определяется диили гаплоидностью особи. У пчел и муравьев, например, самцы, развивающиеся из неоплодотворенных яйцеклеток, первично гаплоидны. В дальнейшем их соматические клетки становятся диплоидными. При определенных внешних воздействиях на яйцеклетки некоторых видов организмов (низкие температуры, икра тритонов) в эксперименте удавалось получать гаплоидных животных, отличавшихся, однако, пониженной жизнеспособностью. В исключительных случаях гаплоидные особи тритонов появляются в природных условиях, возможно, вследствие резких температурных колебаний в период оплодотворения.

Отмечено, в частности у человека, появление на свет полиплоидных (три- и тетраплоидных, т. е. $3n$ и $4n$ соответственно) организмов, которые отличались сниженной жизнеспособностью: ни один из новорожденных полиплоидов человека не прожил более двух недель после рождения. Описаны, в том числе среди взрослых людей, особи-мозаики, в органах и тканях которых, наряду с диплоидными клетками, присутствуют клетки более высокой плоидности.

В приведенных выше примерах обращает на себя внимание факт изменения в клетках числа полных геномов. Это обстоятельство - веский аргумент в пользу выделения у эукариот, наряду с геномным и хромосомным, также геномного уровня организации генетического аппарата.

Значение указанного уровня для наследственности состоит, во-первых, в том, что геном представляет собой не случайный, а сбалансированный качественно (по биоинформационному наполнению) и количественно (по дозам структурных генов и сайтов ДНК с другими функциями) объем генетической информации. Будучи эволюционно «проработанной» и отобранной, эта биоинформация необходима и одновременно достаточна для обеспечения присущего особям конкретного биологического вида типа индивидуального развития (онтогенез) и обмена веществ (метаболизм). Во-вторых, эффективное решение названной задачи допускает наличие некодирующих (в том числе транскрибируемых, но не транслируемых) нуклеотидных последовательностей с приобретением ими регуляторных, сервисных, конценсусных и иных функций. В-третьих, оказалась возможной кластерная организация генов, контролирующей жизненно важные клеточные и организменные функции - с одной стороны, кластеры генов рРНК, тРНК, гистонов, с другой, кластеры α - и β -глобиновых генов. Кластерная организация генов в приведенных примерах позволяет решать разные функционально-генетические задачи (см. п. 2.4.3.3 и 4.3.3.2). В-четвертых, отдельные хромосомы являются группами сцепления генов. Учитывая корпускулярную природу генов, это обуславливает как независимое, так и сцепленное (частично или полностью) наследование, а также различные комбинации (сочетания) аллелей и признаков. Следствием последнего является формирование в каждом поколении уникальных по аллельному составу генотипов и, следовательно, появление различающихся по фенотипам потомков.

Присутствие в геномах эукариот избыточной ДНК, возможно, было использовано в процессе исторического развития (эволюция) для создания в случае необходимости «новых» структурных генов (транскрибируемых и транслируемых, экспрессируемых сайтов ДНК) или нуклеотидных последовательностей с регуляторной, сервисной и иными функциями. С геномным уровнем организации генетического аппарата эукариот связывают также переход к возможности

Источник KingMed.info

избирательной транскрипции генов по времени (период онтогенеза), месту (тип клеток) и объему. В связи с отмеченным вспомним о смене форм β -полипептида гемоглобина в ряду «эмбрион-плод-родившийся человек». При этом происходит не только смена активного (экспрессируемого, транскрибируемого и транслируемого) гена β -глобинового кластера (см. п. 2.4.3.4-д), но и типа клеток, в которых соответствующий ген экспрессируется: стенка желточного мешка эмбриона, печень плода, красный костный мозг родившегося человека. Молекула гемоглобина образована полипептидами α и β , которые находятся в строго определенном количественном соотношении: на каждые 2 полипептида α приходится 2 полипептида β . Очевидно, что транскрипция генов названных полипептидов должна быть в количественном плане согласована, что и имеет место.

4.3.3.1. Формы взаимодействия неаллельных генов

Большинство признаков и свойств живого существа являются сложными. Их развитие почти всегда представляет собой результат взаимодействия ряда генов, причем неаллельных, т. е. располагающихся на разных хромосомах или на одной хромосоме, но в разных локусах. Классической (домолекулярный и догеномный периоды) генетикой были определены такие формы взаимодействия неаллельных генов, как полимерия (полимерное наследование), комплементарное взаимодействие и эпистаз - рецессивный и доминантный. Формы взаимодействия аллельных генов - см. п. 4.3.1.2.

Развитие количественных признаков нередко обусловлено **полимерными генами** или **полигенами** - системой неаллельных генов, в равной мере влияющих на формирование соответствующего признака и характеризующихся аддитивным (суммирующим) действием. Соответственно степень выраженности признака зависит от совокупной дозы доминантных аллелей всех полимерных генов системы. С известной долей осторожности можно сказать, что полимерное наследование - один из генетических механизмов, оказывающих влияние на экспрессивность количественного признака. По полимерному типу у людей наследуется, в частности, интенсивность окраски кожных покровов, зависящая от количества откладываемого в цитоплазме пигментных клеток (меланоциты) черного пигмента меланина. По общепринятому мнению, в геноме человека за пигментацию кожи ответственна система из 4 генов. Учитывая диплоидность соматических клеток, каждый из этих генов представлен в генотипе двойной дозой. Так как они участвуют в определении степени развития одного признака, их обозначают одной буквой, но с разными цифровыми индексами: P_1, P_2, P_3 и P_4 - доминантные аллели или p_1, p_2, p_3, p_4 - рецессивные аллели. Наличие в генотипе индивидуума восьми доминантных аллелей рассматриваемых полигенов ($P_1P_1 P_2P_2 P_3P_3 P_4P_4$) обуславливает максимальную пигментацию кожных покровов, отличающую африканских негров. Гомозиготы по рецессивным аллелям четырех генов характеризуются минимальным уровнем пигментации, отличающим представителей европеоидной расы. Большее или меньшее число доминантных аллелей - от 8 до 0 - определяет разную интенсивность окраски кожных покровов (рис. 4.17). Полигенное наследование характеризует у человека такие признаки, как рост и масса тела, возможно, интеллект. В последнем случае предполагается соучастие большого количества генов - несколько десятков или более.

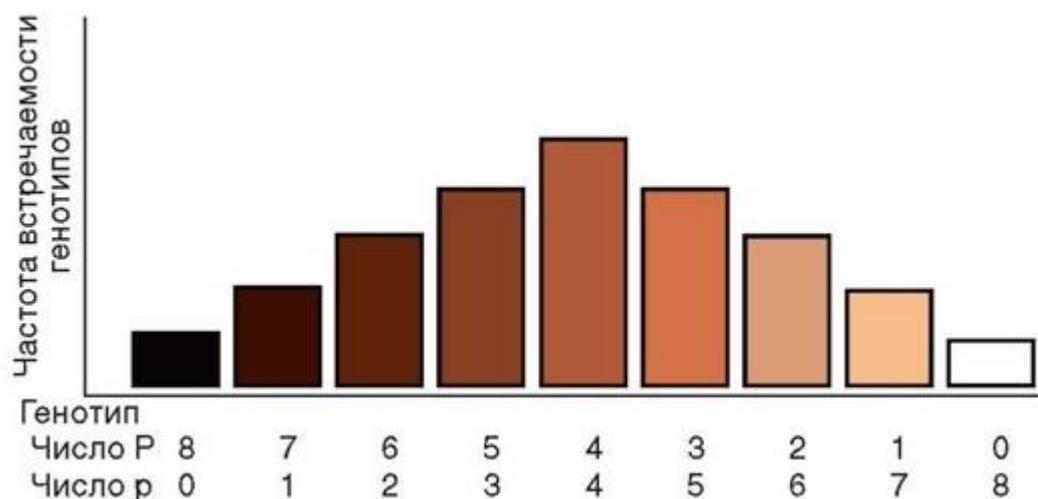


Рис. 4.17. Зависимость пигментации кожных покровов у человека от числа в генотипе доминантных аллелей системы полигенов *P*

Если формирование сложного признака требует совокупного действия (взаимодействия) аллелей конкретных неаллельных генов, то, очевидно, он будет проявляться в фенотипе лишь тех особей, которые в генотипах имеют именно требуемую комбинацию аллелей. По существу, речь идет о том, что в результате совокупного действия возникает новое качество, которого не было бы при отсутствии соответствующего взаимодействия. Указанное взаимодействие получило название **комплементарного**. В качестве примера рассмотрим процесс формирования половой принадлежности у людей. Известно, что у вида *H. sapiens* комплекс половых признаков определяется сочетанием в кариотипе половых хромосом (гетерохромосом) X и Y. Установлено, однако, что для развития мужского фенотипа недостаточно нуклеотидных последовательностей ДНК хромосомы Y, определяющих дифференцировку половых желез по мужскому типу и образование гормона тестостерона. Необходим также продукт экспрессии другого гена (находится на хромосоме X), обуславливающего образование белка-рецептора к тестостерону и располагающегося в клеточных оболочках. Отсутствие синтеза рецептора, например, вследствие мутации делает ткани-мишени невосприимчивыми к мужскому половому гормону. В результате развивается в целом женский фенотип, однако такой человек лишен детородной функции и наделен рядом физических (метаболические и функциональные параметры скелетной мускулатуры) и характерологических (решительность, импульсивность в действиях) черт, более присущих мужскому полу. Описанное состояние известно как синдром тестикулярной феминизации Морриса (рис. 4.18).

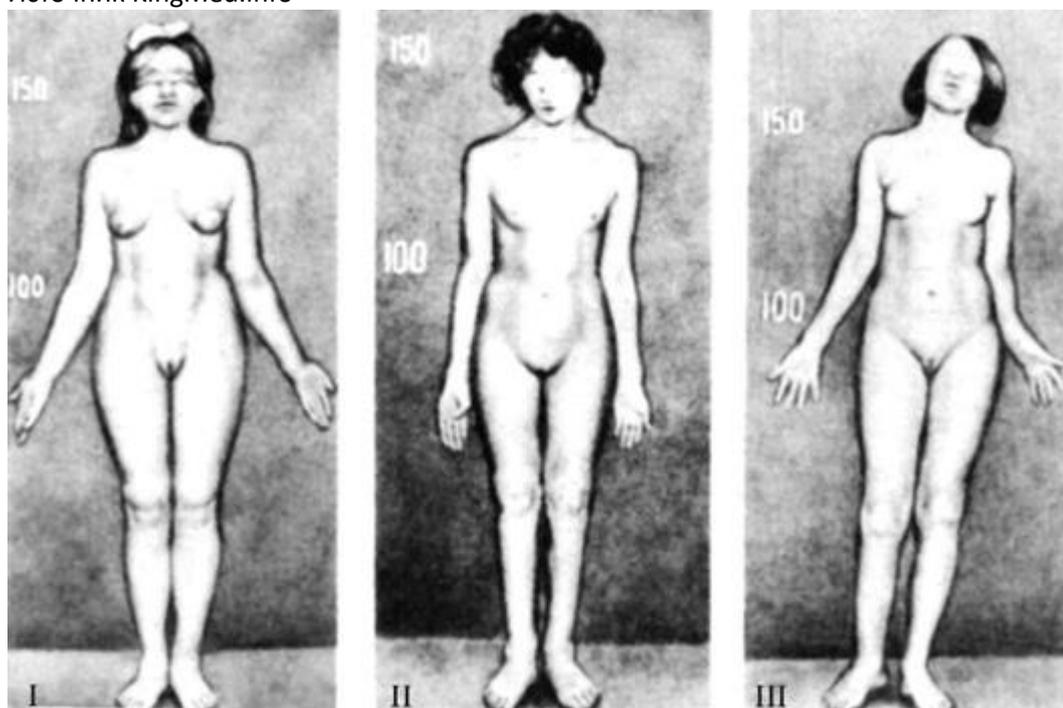


Рис. 4.18. Тестикулярная феминизация - синдром Морриса: I - кариотип 46XY (семенники удалены в детском возрасте); II - евнухоидная форма, кариотип 46XY (отсутствие молочных желез, вторичного оволосения, естественного влагиалища); III - кариотип 46XY

Еще одна форма взаимодействия неаллельных генов - **эпистаз**. В качестве примера рассмотрим ситуацию, связанную с формированием принадлежности человека к определенной группе крови в системе *ABO* (см. также пп. 4.1.1 и 4.3.1.2). Отвечающий за развитие рассматриваемого признака ген *I* в виде аллелей I^A и I^B обеспечивает образование организмом белков с антигенными свойствами *A* и *B*, располагающихся на поверхности эритроцитов. Для того чтобы названные антигены были синтезированы, требуется вещество-предшественник, образование которого детерминировано геном *H*. Доминантный аллель гена *H* присутствует в генотипах подавляющего большинства людей (генотипы *HH* или *Hh*). У редких, но все-таки встречающихся среди людей рецессивных гомозигот (*hh*) вещество-предшественник не образуется, вследствие чего у таких лиц, даже при наличии в генотипах аллелей I^A и/или I^B , антигены *A* и *B* не синтезируются, и по фенотипу они относятся к субъектам с группой крови I, а не II, III или IV. Приведенный пример известен под названием «бомбейский феномен» и соответствует генетическому понятию **рецессивного эпистаза**. С позиций рецессивного эпистаза следует рассматривать случаи альбинизма у людей, когда даже у представителей негроидной расы, которые имеют максимальное число доминантных аллелей в системе полигенов, определяющих интенсивность пигментации кожных покровов, радужной оболочки глаз и волос, рождаются альбиносы с полным отсутствием в клетках организма пигмента меланина (рис. 4.19), который не может образоваться в принципе. Генетика располагает также примерами, когда некий ген, например *B*, обуславливает развитие соответствующего признака только в том случае, если другой (неаллельный гену *B*) ген, например *A*, представлен в генотипе двумя рецессивными аллелями (*aa*). При наличии доминантного аллеля названного гена (генотипы *AA* или *Aa*) признак *B* не формируется. Приведенная ситуация соответствует генетическому понятию **доминантного эпистаза**.



Рис. 4.19. Пример рождения альбиноса в семье негра и негритянки (разнойцовые близнецы - девочка и мальчик, - один из которых альбинос)

С известной долей осторожности можно предполагать, что от наличия эпистатической формы взаимодействия неаллельных генов зависит такое свойство, как пенетрантность.

Как уже отмечалось, рассмотренные формы взаимодействия неаллельных генов в виде полимерного наследования, комплементарного взаимодействия и эпистаза описаны представителями классической (до-молекулярной) генетики. Они были открыты путем анализа вариантов наследования определенных фенотипических признаков потомством и относятся, по существу, к геному уровню организации генетического аппарата эукариот. Расшифровка химической природы генетического материала (ДНК) и непосредственная работа с ним методами молекулярной генетики (см. п. 5.2.2.3-в), осознание системного принципа функционирования аппарата наследственности и биологической изменчивости, появление в генетическом обиходе понятия «геном» (см. п. 4.3.3.2) способствовали расширению представлений о формах взаимодействия различных нуклеотидных последовательностей или сайтов ДНК в процессе формирования фенотипа особи. Вспомним, к примеру, о взаимодействии элементов промотора и сайтов с энхансерной функцией (см. п. 2.4.5.5). Особое внимание в настоящее время уделяется нуклеотидным последовательностям, выполняющим регуляторные функции относительно структурных (экспрессируемые, информативные, транскрибируемые и транслируемые) генов.

4.3.3.2. Функционально-генетическая характеристика нуклеотидных последовательностей ДНК (сайтов, генов)

Источник KingMed.info

В классической (домолекулярной) функциональной генетике, когда методы исследования закономерностей наследования признаков и генетических законов ограничивались фактически гибридологическим (растения и животные), генеалогическим и близнецовым (человек) методами, а представления о материальной природе генов носили гипотетический характер, в функционально-генетическом плане речь могла идти исключительно о структурных генах, отличительной характеристикой которых было наличие соответствующих им признаков. В современной генетической номенклатуре к категории **структурных генов** относят две разновидности нуклеотидных последовательностей (сайтов) ДНК. С одной стороны, это последовательности, которые транскрибируются с образованием и(м)РНК и затем транслируются с образованием простых белков (полипептидов, протеинов). С другой стороны, к категории структурных генов причисляют также последовательности, которые транскрибируются с образованием определенных видов РНК - рибосомных и транспортных, необходимых для организации в клетках процесса биосинтеза белков. Ни рРНК, ни тРНК не транслируются. Таким образом, среди структурных генов выделяют **транскрибируемые и транслируемые**, а также **транскрибируемые, но не транслируемые**. Оказалось, однако, что на долю таких последовательностей приходится не более 5% общего количества ДНК генома (см. п. 2.4.3.4-д).

Достижения генетики последних десятилетий позволяют связать некоторую часть структурных генов (в частности, из числа транскрибируемых и транслируемых нуклеотидных последовательностей ДНК) с важнейшими событиями индивидуального развития и процессами жизнедеятельности, выделяя их в отдельные субсемейства. Так, выделяют **структурные гены**, напрямую связанные с обеспечением **эмбриогенеза многоклеточных животных**. К примеру, на ранних стадиях эмбрионального развития под генетическим контролем устанавливается своеобразная координатная сетка, позволяющая клеткам развивающегося организма определить себя в пространстве. Благодаря последовательно активируемым группам генов (**материнские гены**, **gap** и **pair-rule гены**, **гены сегментарной полярности**) у плодовых мух (дрозофилы) определяется головной и хвостовой концы, а тело зародыша подразделяется в переднезаднем направлении на фиксированное число сегментов, клетки которых дадут в дальнейшем конкретные структуры. Благодаря соответствующему генетическому контролю определяется также спинно-брюшное направление. В рассматриваемом отношении интересны **гомеозисные гены**, которые располагаются кластерами линейно друг за другом. Они контролируют развитие в требуемом направлении определенных клеточных популяций. При этом последовательность генов в кластере соответствует пространственному взаиморасположению возникающих в процессе развития структур организма - проксимодистальное и дорсовентральное направления.

Эмбриогенез в реальном пространственно-временном воплощении представляет собой единый процесс. Тем не менее выделение в этом процессе определенных стадий (дробление, бластула, гастрюла, первичный органогенез или закладка осевых органов, вторичные или локальные органогенезы) оправдано хотя бы тем, что, как оказалось, они находятся под специальным генетическим контролем. Так, у мыши обнаружен **локус T**, представленный 117 аллелями. Аллель *t* проявляет свойство рецессивности относительно всех остальных аллелей. У гомозигот по некоторым аллелям локуса *T* эмбриональное развитие проходит нормально лишь до определенной стадии. По достижении этой стадии зародыш прекращает развитие и гибнет. Нежизнеспособны гомозиготы: $t^{12}t^{12}$ (не образуется трофобласт, гибель на стадии 16 бластомеров - мору-ла), $f^{73}f^{73}$ (в связи с функциональной несостоятельностью поверхности клеток хориона зародыш не имплантируется в стенку матки, гибель на стадии 64 бластомеров - бластоциста), t^0t^0 (не образуется амнион), $t^{w5}t^{w5}$ (возникнув, зародышевая эктодерма погибает), $t^{9}t^{9}$ (зародыш нежизнеспособен, так как нет мезодермы: не образуется первичная

Источник KingMed.info

полоска - дефект эмбриональной индукции), $t^{w1}t^{w1}$ (дефект нейруляции - гибнут клетки вентральных отделов нервной трубки и закладки головного мозга). У гомозигот Tt нервная трубка коротка и не достигает заднего конца тела зародыша, в связи с чем нарушается ход вторичных (локальных) органогенезов, и зародыш гибнет. Детальна также рецессивная гомозигота tt . Типичный фенотипический признак мышей с генотипом Tt - короткие хвосты.

У эукариот обнаружены структурные **гены**, которые можно выделить в субсемейство, члены которого решают **задачи экологического характера** или же **обеспечивают соответствующий образ существования** (например, паразитический). Выше говорилось (см. п. 4.3.3), что у человека на разных этапах онтогенеза синтезируются разные полипептиды α - и β -глобинов, благодаря чему образуются гемоглобины - эмбриональный, плодный и родившегося человека. Необходимость последовательной смены в онтогенезе названных вариантов гемоглобина диктуется изменениями условий снабжения тканей кислородом, т. е. экологическими обстоятельствами.

Паразитам высших животных, в том числе млекопитающих, отличающихся наличием эффективной иммунной системы, приходится решать специфическую задачу ухода от надзорной функции последней. Один из способов - особый генетический механизм. Так, в геноме внутриклеточного паразита человека, возбудителя африканского трипаносомоза (сонная болезнь) жгутикового простейшего трипаносомы (*Trypanosoma brucei gambiense*) имеется «кассета» генов, контролирующих образование белка клеточной оболочки паразита и имеющих некоторые отличия в нуклеотидных последовательностях. Уход трипаносом от противостояния иммунной системы организма-хозяина связан с регулярной сменой активного гена «кассеты». Результат заключается в

появлении в клеточной оболочке «нового» варианта белка-антигена, что заставляет иммунную систему выстраивать свои отношения с паразитом после каждой такой смены заново. Некоторые внутриклеточные паразиты человека (возбудитель трехдневной малярии *Plasmodium vivax*, возбудитель американского или городского трипаносомоза, известного так же, как болезнь Чагаса, *Trypanosoma cruzi* - см. п. 2.4.2) используют в качестве «ворот» для проникновения в клетки хозяина белки плазмолеммы, образуя под генетическим контролем соответствующие молекулы-лиганды.

В качестве самостоятельного субсемейства следует, по-видимому, выделить гены **«социального» контроля**. Речь здесь может идти о протоонкогенах (см. п. 3.1.4), которые обуславливают образование ферментов протеинкиназ, факторов роста и клеточных рецепторов к этим факторам, участвующих в регуляции клеточной пролиферации. Ряд синтезируемых под контролем названных генов веществ принимает участие в запуске и реализации генетически запрограммированной клеточной гибели - апоптоза (см. п. 3.1.2). Напомним, что механизм апоптоза сложился в эволюции в немалой степени в связи с необходимостью контроля клеточного состава многоклеточного организма и направлен в том числе против клеток, вышедших из-под влияния общеорганизменных регуляторных систем, например, вставших на путь онкотрансформации (см. п. 2.2 - концепция «клеточного государства» Р. Вирхова; см. п. 3.1.4).

Существует достаточно многочисленное субсемейство нуклеотидных последовательностей ДНК, которые принимают участие в **регуляции генетической активности структурных** (в частности, транскрибируемых и транслируемых) **генов**. В этом плане предположительно речь может идти о некоторых 3'-транскрибируемых, но не транслируемых последовательностях ДНК транскриптона (см. п. 2.4.5.5), например, тех, с которыми связано образование в молекулах и(м)РНК поли(А) «хвоста». Действительно, дезаденилирование названных и(м)РНК используется, видимо, как

Источник KingMed.info

механизм регуляции времени полураспада, т. е. продолжительности существования информационных РНК в цитоплазме. Регуляторная функция через образование контролируемых ими белков характеризует сайты ДНК, обуславливающие образование транскрипционных факторов (см. п. 2.4.5.5).

Определенные нуклеотидные последовательности ДНК используются для **контроля важных обще клеточных функций**. Так, теломер-ной ДНК приписывают роль, с одной стороны, таймера (биологические часы), указывающего предел числа отпущенных клеткам многоклеточного организма делений - эффект Хейфлика, а с другой - эта ДНК предположительно обеспечивает путем взаимодействия с ядерной ламиной и внутриядерным матриксом упорядоченное расположение хромосом в объеме интерфазного ядра (см. п. 2.4.3.4-г).

Среди функций нуклеотидных последовательностей ДНК называют также сервисную и конценсусную.

В качестве примера сайтов с **сервисной функцией** укажем 5'-транскрибируемые, но не транслируемые последовательности области промотора транскриптона (см. п. 2.4.5.5), которые создают условия для инициации процесса транскрипции биологической информации с ДНК. Эта же функция выполняется, по-видимому, сайтами ДНК, контролирующими образование белков пререпликативного и репликативного комплексов, обеспечивающих самоудвоение биспирали ДНК (см. п. 2.4.5.3). Без определенных белков, образуемых клетками под контролем соответствующих нуклеотидных последовательностей ДНК (генов), выполняющих, видимо, также сервисную функцию, невозможен транспорт пре-и(м)РНК из ядра в цитоплазму в форме ядерных информосом (см. п. 2.4.5.5).

Конценсусная функция приписывается нуклеотидным последовательностям на стыке интронов и экзонов, а также транскрибируемым, но не транслируемым сайтам, контролирующим образование малых ядерных и ядрышковых РНК - участниц процессинга пре-РНК транскриптов в качестве обязательного компонента сплайсосом (см. п. 2.4.5.5).

Транскрибируемым, но не транслируемым нуклеотидным последовательностям ДНК 5' и 3' концов транскриптона, с которыми связано наличие в и(м)РНК соответственно колпачка (кэпа) и уже упоминавшегося поли(А) «хвоста», приписывают **защитную функцию** - предохранение и(м)РНК от разрушительного действия ферментов нуклеаз.

На настоящий момент для большей части нуклеотидных последовательностей ядерной ДНК функция однозначно не определена и здесь в обозримом будущем следует ожидать важных открытий (область интересов функциональной геномики).

4.3.3.3. Геномный уровень и биологическая изменчивость. Геномные мутации

Геномные мутации представлены двумя группами изменений в генетическом аппарате эукариот. Во-первых, это изменение числа геномов на клетку в сравнении с диплоидным или удвоенным как в сторону уменьшения до одинарного - **гаплоидия**, так и в сторону увеличения до трехкратного, четырехкратного и далее - **полиплоидия**. Примеры обоих вариантов геномных мутаций такого рода, а также их влияние на жизнеспособность особей-мутантов - см. п. 4.3.3. Эти примеры относятся к миру животных. В мире растений негативные последствия мутаций, связанных с изменением количества геномов, не столь очевидны. Напротив, селекционеры нередко индуцируют такие мутации, получая путем отбора среди мутантов новые сорта. Так, если сравнить количество генетического материала (ДНК) в клетках культивируемых сортов

Источник KingMed.info

злаковых, например пшеницы, легко убедиться в различиях, которые в абсолютном выражении кратны величине, соответствующей одинарному (гаплоидному) набору хромосом, т. е. геному. Геномные мутации, состоящие в изменении числа геномов, приводят к изменению дозы всех структурных генов и нуклеотидных последовательностей с другими (регуляторными, сервисными, конценсусными) функциями. Из приведенных примеров следует, что для индивидуального развития и жизнедеятельности неблагоприятны в одинаковой мере как уменьшение (гаплоидия), так и увеличение (полиплоидия) дозы генов в сравнении с удвоенной (диплоидия).

Во-вторых, к геномным мутациям относят изменения числа отдельных хромосом - **анэуплоидия**. Среди мутаций такого рода выделяют 2 варианта. С одной стороны, это уменьшение числа гомологичных хромосом конкретной пары в диплоидном наборе с двух до одной - **моносомия**, с другой - увеличение числа до трех и более - **трисомия**, **полисомия**. Геномные мутации, заключающиеся в изменении числа отдельных хромосом, приводят к нарушению генного баланса по той или иной группе сцепления (см. п. 4.3.2.1). Достоверно установлено, что полные моносомии по аутосомам нежизнеспособны. Во всяком случае среди родившихся людей организмы-моносомы по аутосомам не обнаружены. Напротив, жизнеспособные особи-моносомы по половым хромосомам известны. Так, у людей с синдромом Шерешевского- Тернера (рис. 4.20) утрачена одна из половых хромосом - кариотип 45XO. Именно по хромосомам X и Y возможна полисомия. В частности, среди людей обнаружены три-, тетра-, пентасомы по хромосоме X -



Рис. 4.20. Синдром моносомии X (XO-синдром, синдром Шерешевского-Тернера): а - внешний вид больной; б - кариотип женщины с синдромом XO: I - выраженная трапециевидная шейная складка, широкая грудная клетка, широко расставленные и слабо развитые соски молочных желез; II - характерные лимфатические отеки на ногах

Источник KingMed.info

кариотипы 47xxx (рис. 4.21), 48xxxx, 49xxxxx. Обнаружены субъекты с увеличенным числом хромосом Y (кариотипы 47XY₂, 48xyyy) - синдром Клайнфельтера. Названный синдром воспроизводится и при кариотипе xxy (рис. 4.22). Встречаются кариотипы 48xxxx и 48xxyy, а также мозаики, в организме которых часть клеток имеет моносомию по хромосоме x, тогда как часть клеток отличается обычным мужским кариотипом - 45X0/46XY). Лица с кариотипами, приведенными выше и имеющими отклонения от нормального, характеризуются более или менее выраженным нарушением здоровья, в частности полового.

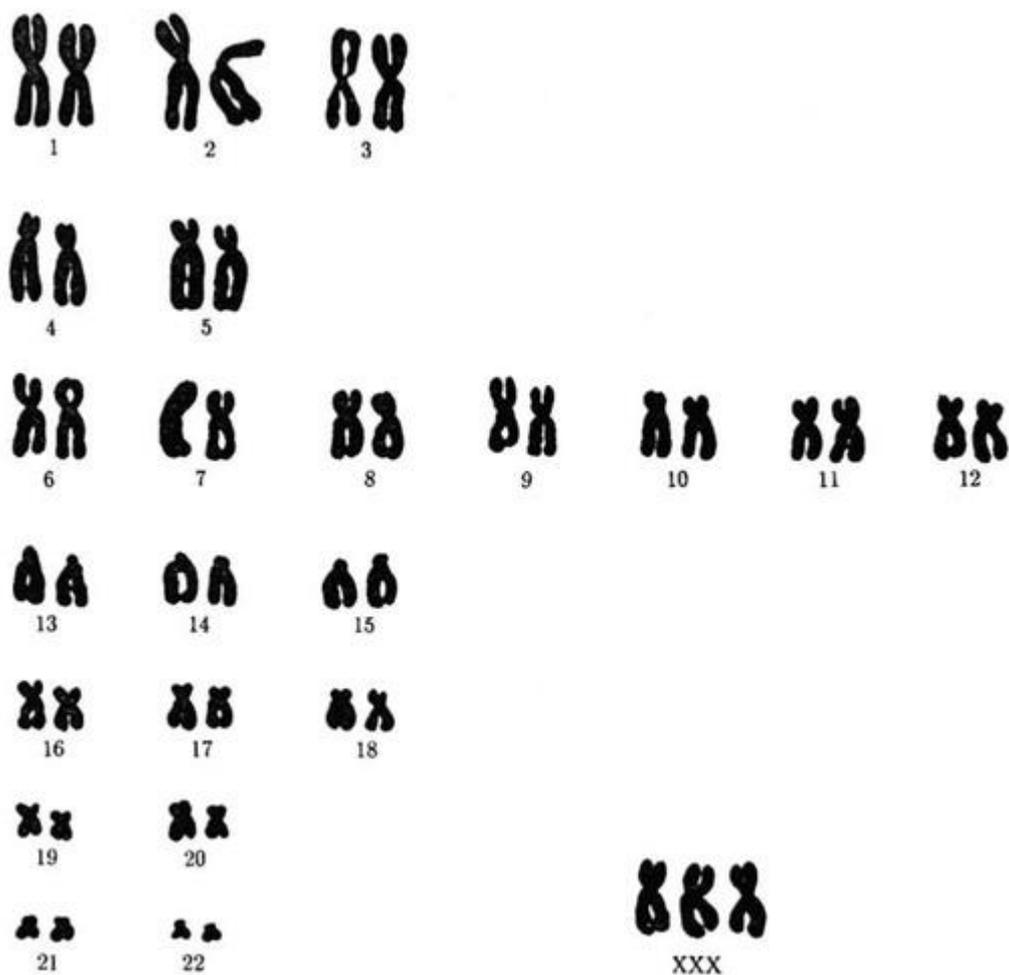


Рис. 4.21. Кариотип женщины с синдромом трисомии X

Известны организмы-трисомики по аутосомам. Лица с синдромом Дауна, например, характеризуются трисомией по хромосоме 21. «Лишняя» хромосома 21 у таких пациентов может существовать самостоятельно (рис. 4.23) или же быть транслоцированной на другую хромосому

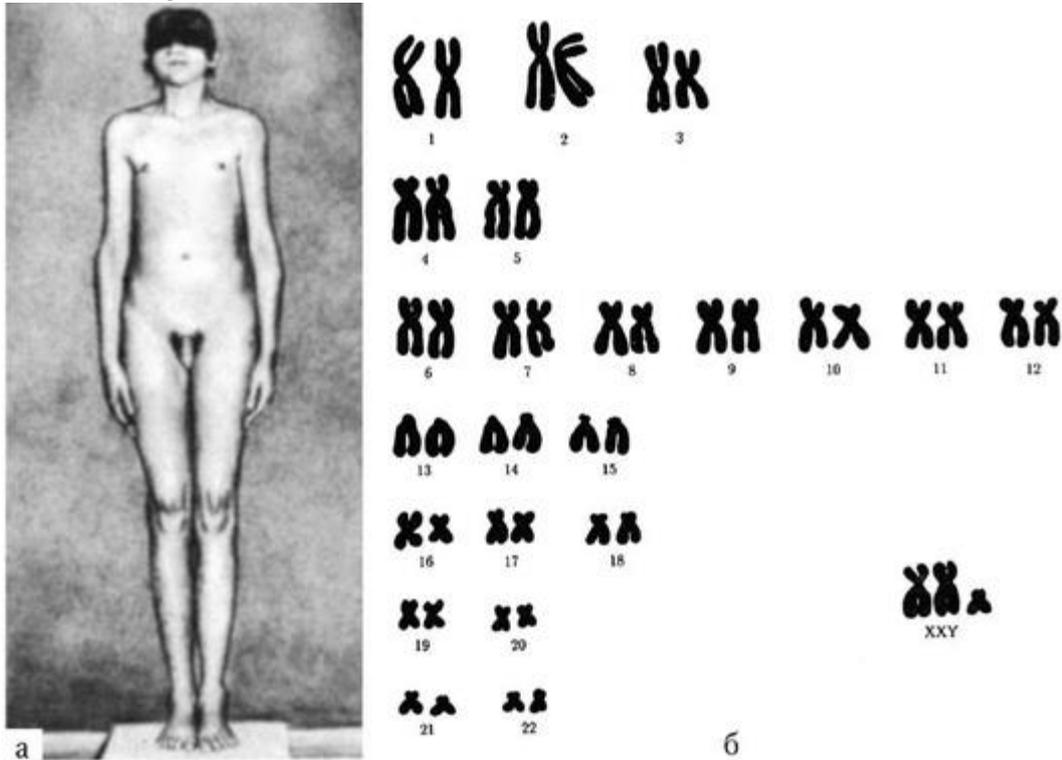


Рис. 4.22. Синдром Клайнфельтера: а - внешний вид больного (характерен высокий рост, непропорционально длинные конечности); б - кариотип больного (XXY)



Рис. 4.23. Синдром трисомии 21 (синдром Дауна): а - внешний вид больного; б - кариотип больного

(рис. 4.24). Молекулярно-цитогенетические и клиничко-генетические исследования последних десятилетий показали, что хромосома 21 имеет «критический» участок (*q22.3*). Увеличение дозы сайтов этого участка до трех, собственно, и дает развитие синдрома Дауна (частичная трисомия по хромосоме 21). Предположительно ключевую роль в развитии типичной для названного синдрома умственной отсталости играет увеличение дозы гена фермента супероксиддисмутазы, располагающегося в критическом участке *q22.3*. Напомним, что этот фермент - важный участник внутриклеточных антиоксидантных механизмов, обеспечивающих снижение негативных последствий образования АФК (свободные радикалы), см. п. 2.4.8. Установлено, что у человека, наряду с трисомией-ей 21, совместимы с жизнью трисомии по хромосомам 8 (рис. 4.25), 13 (синдром Патау - рис. 4.26) и 18 (синдром Эдвардса - рис. 4.27), тогда как полные трисомии по

Источник KingMed.info

хромосомам 1, 5, 6, 11 и 19 приводят к гибели эмбриона на ранних стадиях развития. Трисомия по хромосоме 16 обнаруживается только в материале абортусов.

Цитологические механизмы геномных мутаций связаны с нарушением гаметогенеза (мейоза): с нерасхождением или утратой геномов (полиплоидия, гаплоидия), а также отдельных хромосом (анэуплоидия). Нерасхождение в мейозе геномов приводит к образованию диплоидных гамет. При оплодотворении таких гамет гаплоидной гаметой возникают триплоидные особи. Рождение тетраплоидных организмов имеет в своей основе более сложные нарушения мейоза или же события на стадии первых дроблений зиготы.

Из практики селекционной работы известны примеры образования жизнеспособных и дающих потомство гетерополиплоидных растений. В частности, речь идет о межвидовом гибриде капусты и редьки (Г.Д. Карпеченко). В гаплоидном геноме гамет этого гибрида объединены геномы (хромосомы) родителей - капусты и редьки. Названный гибрид не нашел применения в сельском хозяйстве, поскольку в противоречии с ожидаемым - надземная часть капусты и подземная редьки, и перспектива получать с одной площади земли одновременно урожай двух разных овощей - он имел надземную часть редьки и подземную капусту.

К первичной гаплоидности может привести развитие особи из яйцеклетки без оплодотворения (партеногенез).

К анэуплоидиям ведет нерасхождение хромосом в анафазе первого деления мейоза. При этом одна из будущих гаплоидных половых клеток несет «лишнюю» хромосому, тогда как вторая лишена этой хромосомы.

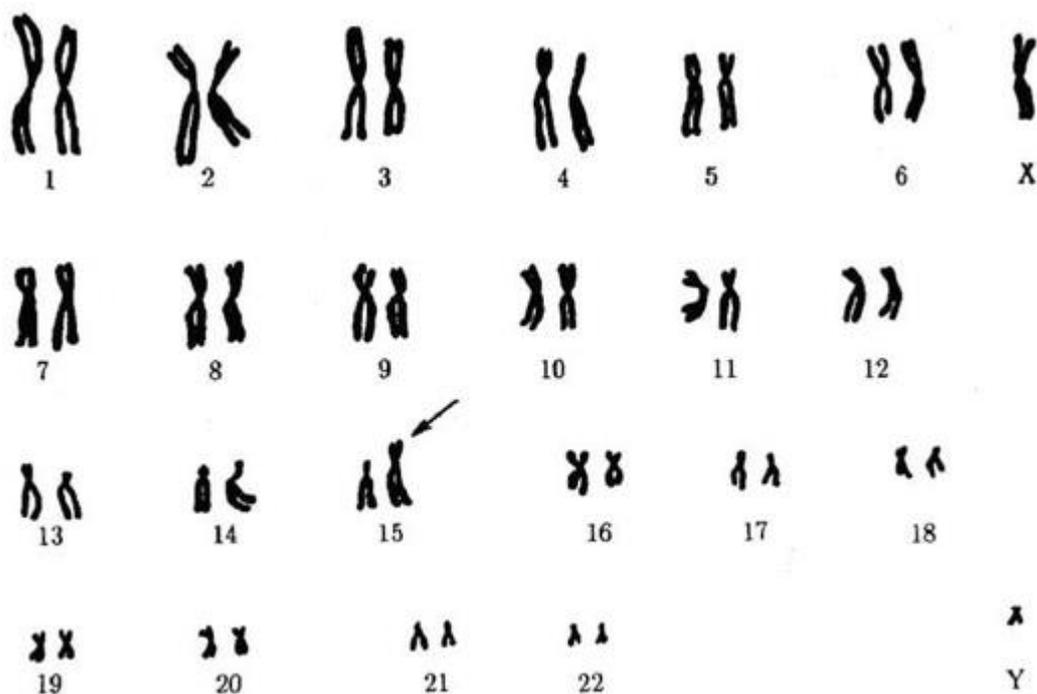


Рис. 4.24. Кариотип при транслокационном синдроме Дауна. Одна хромосома 21 присоединена к хромосоме 15 - указано стрелкой

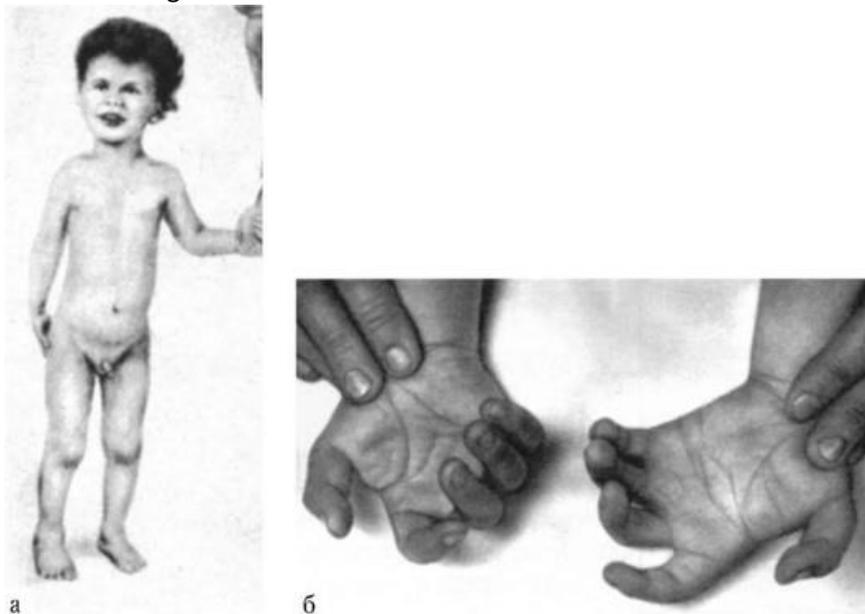
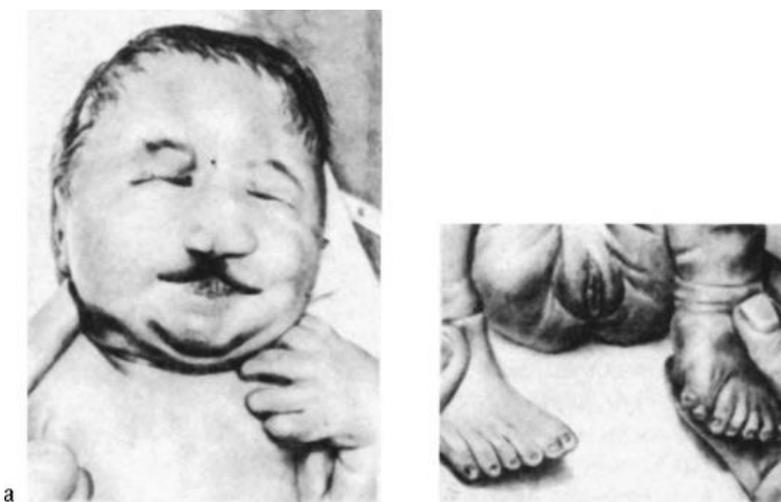
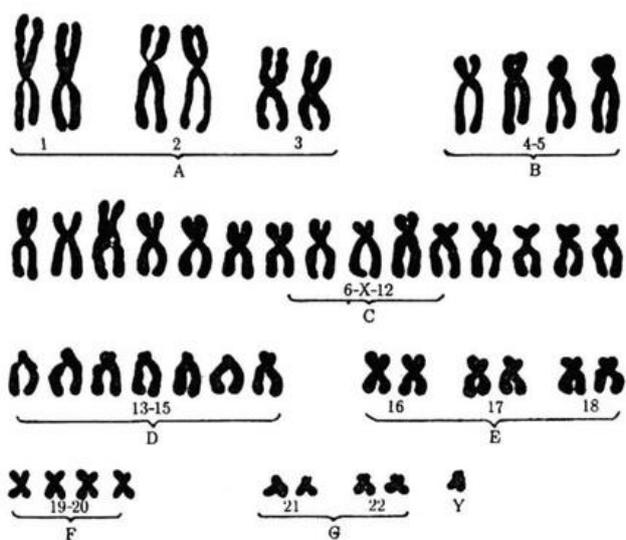


Рис. 4.25. Синдром трисомии 8: а - внешний вид больного; б - контрактуры в межфаланговых суставах кистей

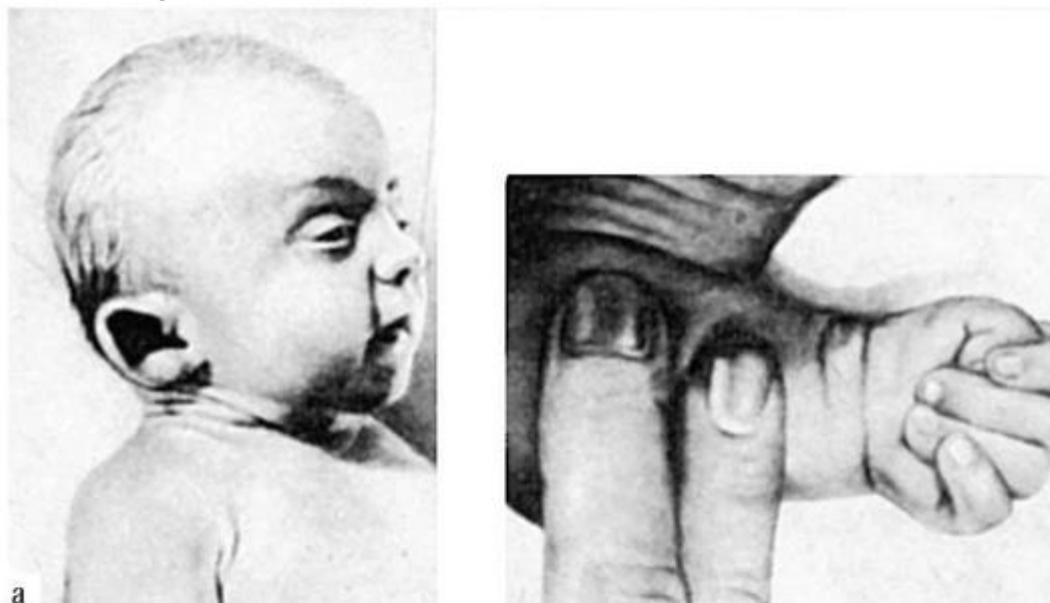


а

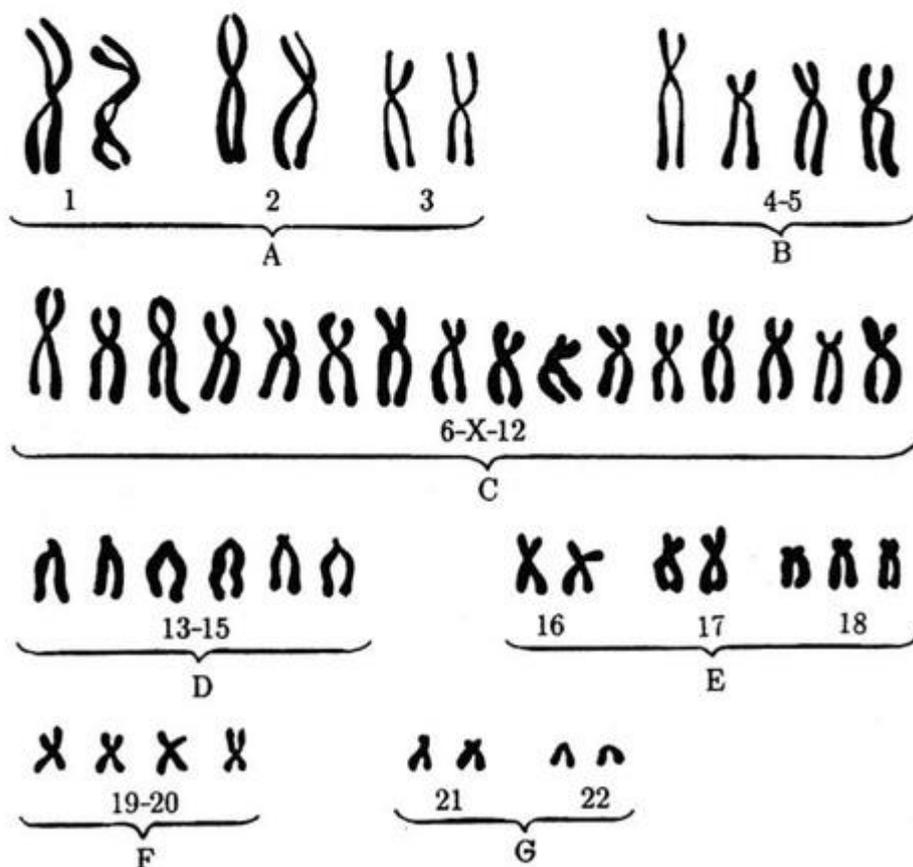


б

Рис. 4.26. Синдром трисомии 13 (синдром Патау): а - внешний вид больного; б - кариотип больного трисомией в группе D



а



б

Рис. 4.27. Синдром трисомии 18 (синдром Эдвардса): а - внешний вид больного; б - кариотип больного трисомией в группе E

Участие таких гамет в оплодотворении приводит соответственно к три-сомиям и моносомиям (рис. 4.28).

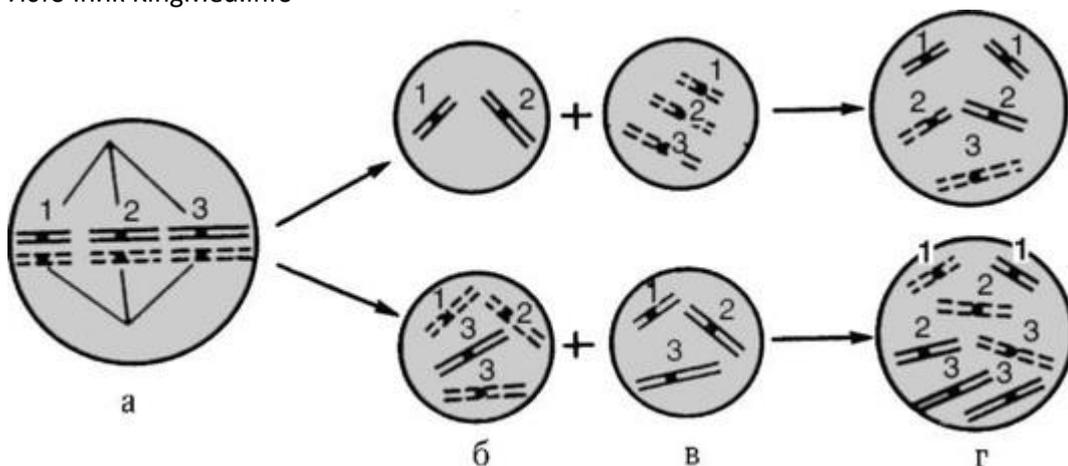


Рис. 4.28. Нарушение расхождения отдельных бивалентов (1, 2, 3) как причина анеуплоидий: а - метафаза I мейоза; б - образование аномальных гамет вследствие нарушения расхождения 3-го бивалента в анафазе I мейоза; в - оплодотворение аномальной гаметы нормальной гаммой особи другого пола; г - образование зигот с анеуплоидными кариотипами (моносомия и трисомия по хромосоме 3, соответственно сверху и снизу)

4.3.3.4. Биологическое значение геномного уровня организации генетического аппарата

Геном, объединяя всю совокупность хромосомных генов (сайтов, нуклеотидных последовательностей ДНК), представляет собой эволюционно сложившуюся структуру, которая отличается относительно большей стабильностью в сравнении со специфическими структурами генного и хромосомного уровней - генами и хромосомами. На геномном уровне, т.е. в геноме, функционирует система сбалансированных (взаимосоответствующих) по дозам и объединенных сложными функциональными взаимосвязями генов, которая представляет собой нечто большее, чем простая совокупность отдельных единиц наследственности. Именно поэтому результатом функционирования генома как единого целого является формирование фенотипа организма соответствующего биологического вида во всем многообразии его (организма) характеристик на всем протяжении индивидуального развития. Таким образом, поддержание постоянства организации генетического аппарата на геномном уровне имеет первостепенное значение для обеспечения нормального развития особи и воспроизведения в ходе этого развития в первую очередь видовых характеристик.

В то же время рекомбинация единиц наследственности в генотипах особей, например, в связи с мейозом и оплодотворением обуславливает генетическое разнообразие, что имеет особое эволюционное значение. Мутации, реализующиеся на геномном уровне через изменение характера межгенных взаимодействий, в частности в области регуляторных нуклеотидных последовательностей ДНК, отличаются широким плеио-тропным действием. Количественные изменения доз, а также транслокации и транспозиции генов влияют на экспрессию генов, а включение в геном чужеродной (другого вида организмов) биологической информации при горизонтальном переносе нуклеотидных последовательностей может оказаться эволюционно перспективным, став основной причиной ускорения темпов эволюционного процесса на отдельных этапах исторического развития живых форм на Земле.

4.3.4. ПОНЯТИЕ О КАРИОТИПЕ

Генетические явления, характеризующие наследственность и биологическую изменчивость, биологи достаточно давно связывают с особыми ядерными образованиями - **хромосомами** (см. п. 4.2, А. Вейсман; В. Вальдейер; Т. Бовери и У. Сеттон; Т. Морган), которые с полными основаниями рассматриваются в качестве структур, в которых размещаются гены (см. п. 4.3.2.1). В

истории генетики как науки на протяжении длительного времени при отсутствии реальных знаний о материальном носителе свойств наследственности и изменчивости и благодаря опережающему развитию микроскопической техники хромосомы были фактически единственным объектом для непосредственных наблюдений. Это привело к появлению цитогенетического метода генетического анализа, которому и сейчас принадлежит важное место, в частности, в практике МГК, а также особого понятия - кариотип (см. п. 4.3).

Кариотип - это диплоидный набор хромосом ($2n$), свойственный соматическим клеткам организмов данного вида, представляющий собой видоспецифический сложный признак и характеризующийся определенным числом, строением и генным составом хромосом (рис. 4.29). В таблице 4.2 приведено число хромосом в ядрах соматических клеток некоторых видов животных.

Если число хромосом в одинарном гаплоидном наборе хромосом половых клеток обозначить n , то формула кариотипа будет выглядеть как $2n$. Значение n обычно различно у разных видов. Таким образом, гаплоидное количество хромосом в гаметах людей равно 23 ($n = 23$), а диплоидное, соответствующее кариотипу, - 46 ($2n = 46$).

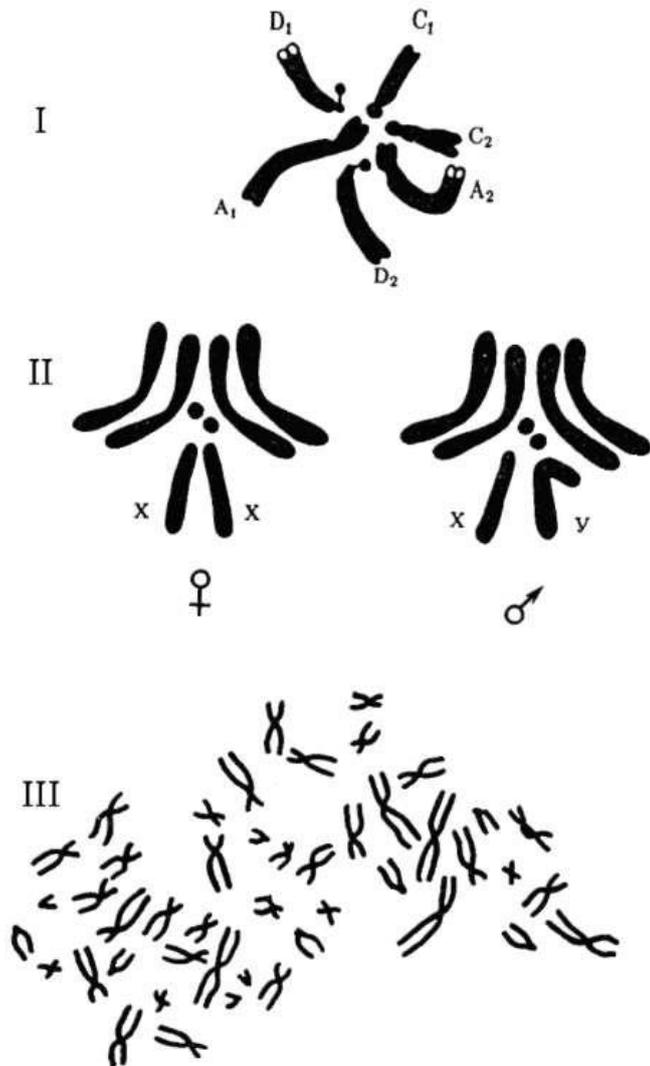


Рис. 4.29. Кариотипы организмов различных видов: I - скерда; II - дрозофила; III - человек

Таблица 4.2. Диплоидное число хромосом (кариотип) в соматических клетках разных видов животных

Животные	Число хромосом
Малярийный плазмодий	2
Гидра	32
Таракан	48
Комнатная муха	12
Сазан	104
Окунь	28
Зеленая лягушка	26
Голубь	80
Кролик	44
Шимпанзе	48
Человек	46

Каждая хромосома представлена в кариотипе **парой гомологов**. Одна из гомологичных хромосом пары унаследована от отца, другая - от матери через половые клетки родителей, принявшие участие в оплодотворении. Генный состав **пары гомологичных хромосом** одинаков. Вместе с тем один и тот же ген в гомологах может быть представлен разными его альтернативными формами или аллелями (аллельными генами). Учитывая известные отношения между аллелями в виде доминантности и рецессивности, а также присутствие в гомологичных хромосомах одинаковых, либо доминантных, либо рецессивных аллелей или же разных аллелей (доминантного и рецессивного), возможны состояния **доминантной гомозиготности, рецессивной гомозиготности и гетерозиготности** (см. также п. 4.3.1.2).

В кариотипах строго гомологичными хромосомами (**аутосомы**) представлены все пары, кроме одной (**гетерохромосомы** или **половые хромосомы**). В клетках пара половых хромосом у особей одного пола (гомогаметный пол, у человека - женский) представлена двумя одинаковыми хромосомами (у человека - XX), тогда как у другого (гетеро-гаметный пол, у человека - мужской) двумя разными хромосомами (у человека - XY). В первом случае генный состав пары половых хромосом совпадает. Поэтому в зависимости от совпадения или несовпадения в двух хромосомах X аллелей соответствующих генов воспроизводятся известные состояния доминантной или рецессивной гомозиготности и гетерозиготности. Большинство генов разных половых хромосом особей гетерогаметного пола различны. В связи с этим возможно состояние **гемизиготности**, когда у особей гетерогаметного пола (у людей мужской - XY), ген хромосомы X, не имея гомолога в хромосоме Y, присутствует в кариотипе в единственном экземпляре. Такой ген обязательно проявит себя в фенотипе, даже если он представлен рецессивным аллелем. Существуют виды, у которых самки и самцы различаются числом гетерохромосом, соответственно XX и XO.

Подчеркнем еще раз, что характеристика кариотипа как видового признака не может ограничиваться исключительно количеством хромосом. Из материалов табл. 4.2, например, следует, что одинаковое число хромосом может быть в кариотипах двух далеко отстоящих друг от друга в эволюционном плане видов - таракана и шимпанзе (см. также п. 4.3).

На настоящий момент разработаны и применяются методы **избирательной (дифференциальной) окраски** метафазных хромосом, которые выявляют типичную (неповторимую, уникальную) для отдельных хромосом поперечную исчерченность, что дает возможность их безошибочной идентификации (рис. 4.30). Введение в цитогенетическую

Источник KingMed.info

практику методов дифференциальной окраски позволило перейти от Денверской классификации хромосом человека к более информативной и, следовательно, более удобной для врачей-генетиков Парижской классификации (см. п. 4.2).

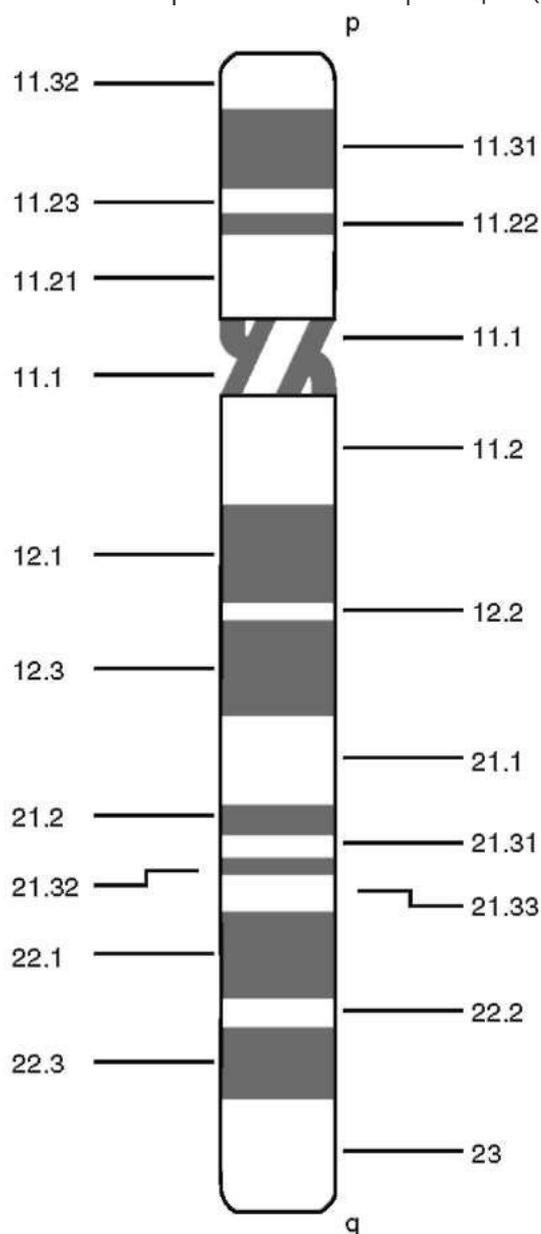


Рис. 4.30. Хромосома человека, дифференциальная окраска (схема): p - короткое плечо хромосомы; q - длинное плечо хромосомы; цифрами обозначены сегменты

Важнейшая функционально-генетическая характеристика хромосом и кариотипа в целом - то, что они в клеточном цикле **редуплицируются** (относительно использования терминов «репликация» и «редупликация», см. п. 2.4.5.3) путем самокопирования.

4.3.5. КЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЕ ТИПЫ НАСЛЕДОВАНИЯ ПРИЗНАКОВ, КОНТРОЛИРУЕМЫХ ЯДЕРНЫМИ ГЕНАМИ

Начальная (стартовая) биоинформация, на основе которой в процессе индивидуального развития формируется фенотип эукариотического организма, находится главным образом (90%) в ядерных структурах клеток - хромосомах. Некоторое (порядка 10%) количество наследственного материала (ДНК) содержится в цитоплазматических клеточных структурах - в частности, в митохондриях (мтДНК, хромосома М).

Ядерные и цитоплазматические структуры, содержащие ДНК, в процессе клеточного деления (митоз, мейоз) распределяются между дочерними клетками по-разному. Это касается не только соматических клеток, но также гамет. В связи с отмеченным, передача ядерных и цитоплазматических генов потомству происходит по разным правилам, что обуславливает особенности наследования соответствующих признаков. Сказанное нашло отражение в том, что наряду с ядерной хромосомной наследственностью известна цитоплазматическая наследственность (см. п. 4.2; К.Э. Корренс и Э. Баур).

Гены (сайты, нуклеотидные последовательности ДНК), связанные с ядерными хромосомами, закономерно распределяются между дочерними клетками благодаря механизму митоза, который обеспечивает постоянство кариотипа в ряду клеточных поколений. Мейоз и оплодотворение обеспечивают постоянство кариотипа в ряду поколений организмов, размножающихся половым путем. Поведение хромосом в митозе, мейозе и при оплодотворении лежит в основе наблюдаемых в природе типов наследования признаков, контролируемых ядерными генами (см. табл. 4.3).

Таблица 4.3. Основные типы наследования признаков, контролируемых ядерными генами

НАСЛЕДОВАНИЕ		
МОНОГЕННОЕ		
НЕЗАВИСИМОЕ (аутосомы и половые хромосомы, взаимодействие аллель-ных генов, гетеро- и гемизиготность, пенетрантность и экспрессивность)	СЦЕПЛЕННОЕ (гены одной хромосомы или группы сцепления)	ПОЛИГЕННОЕ (взаимодействие не-аллельных генов)
Аутосомное	Сцепленное с полом	Полимерное
Доминантное с полной пенетрантностью	Доминантное X-сцепленное	
Доминантное с неполной пенетрантностью	Рецессивное X-сцепленное	Комплементарное
Рецессивное	Промежуточное X-сцепленное	
Промежуточное	Y-сцепленное	Эпистаз рецессивный Эпистаз доминантный

4.3.5.1. Моногенное независимое наследование: аутосомное и сцепленное с полом

Так как кариотип организма - диплоидный набор хромосом, гены аутосом и хромосомы X (гомогаметный пол, у людей женский - 46XX) представлены аллельными парами. Аллельные гены, занимая гомологичные локусы в гомологичных хромосомах (аутосомах или хромосоме X), проявляя свойства доминантности, рецессивности и другие (см. п. 4.3.1.2) и взаимодействуя между собой, определяют основные типы **моногенного независимого наследования** признаков (см. табл. 4.3) - **аутосомно-доминантный, аутосомно-рецессивный** и, если речь идет о гетерозиготах, **промежуточный**, когда ни один из двух аллелей не проявляет относительно другого аллеля свойства абсолютной доминантности. **Неполная пенетрантность доминантного аллеля** гена, контролирующего развитие анализируемого признака, вносит свои особенности в характеристики аутосомно-доминантного наследования (рис. 4.31).

Так как хромосома X присутствует в кариотипе каждой особи независимо от пола, признаки, контролируемые ее генами, формируются в фенотипах и мужских, и женских особей. Если это представители гомогаметного пола, имеющие в кариотипе две хромосомы X, то благодаря возможности гомозиготности (доминантной или рецессивной), гетерозиготности или ситуации с неполной доминантностью выделяются принципиально те же типы моногенного независимого наследования - доминантное, рецессивное и промежуточное. Однако чтобы подчеркнуть факт принадлежности гена к половой хромосоме X, говорят об **X-сцепленном** наследовании (в отличие от **аутосомного**). По-иному обстоят дела у особей гетерогаметного пола, кариотипы

которых несут одну хромосому X, имеющую в паре половых хромосом хромосому Y. Половые хромосомы X и Y отличаются отсутствием полной гомологии локусов (рис. 4.32). В связи с этим по многим генам хромосомы X особи гетерогаметного пола являются гемизиготами, в силу чего ген хромосомы X проявляет себя в фенотипе такой особи всегда, вне зависимости от того, представлен ли он доминантным или рецессивным аллелем. Этим объясняются некоторые особенности рецессивного X-сцепленного типа наследования (рис. 4.33).

Наличие хромосомы Y исключительно в кариотипах особей гетеро-гаметного пола дает основания к выделению **Y-сцепленного** типа наследования в качестве самостоятельного и объясняет его особенности.

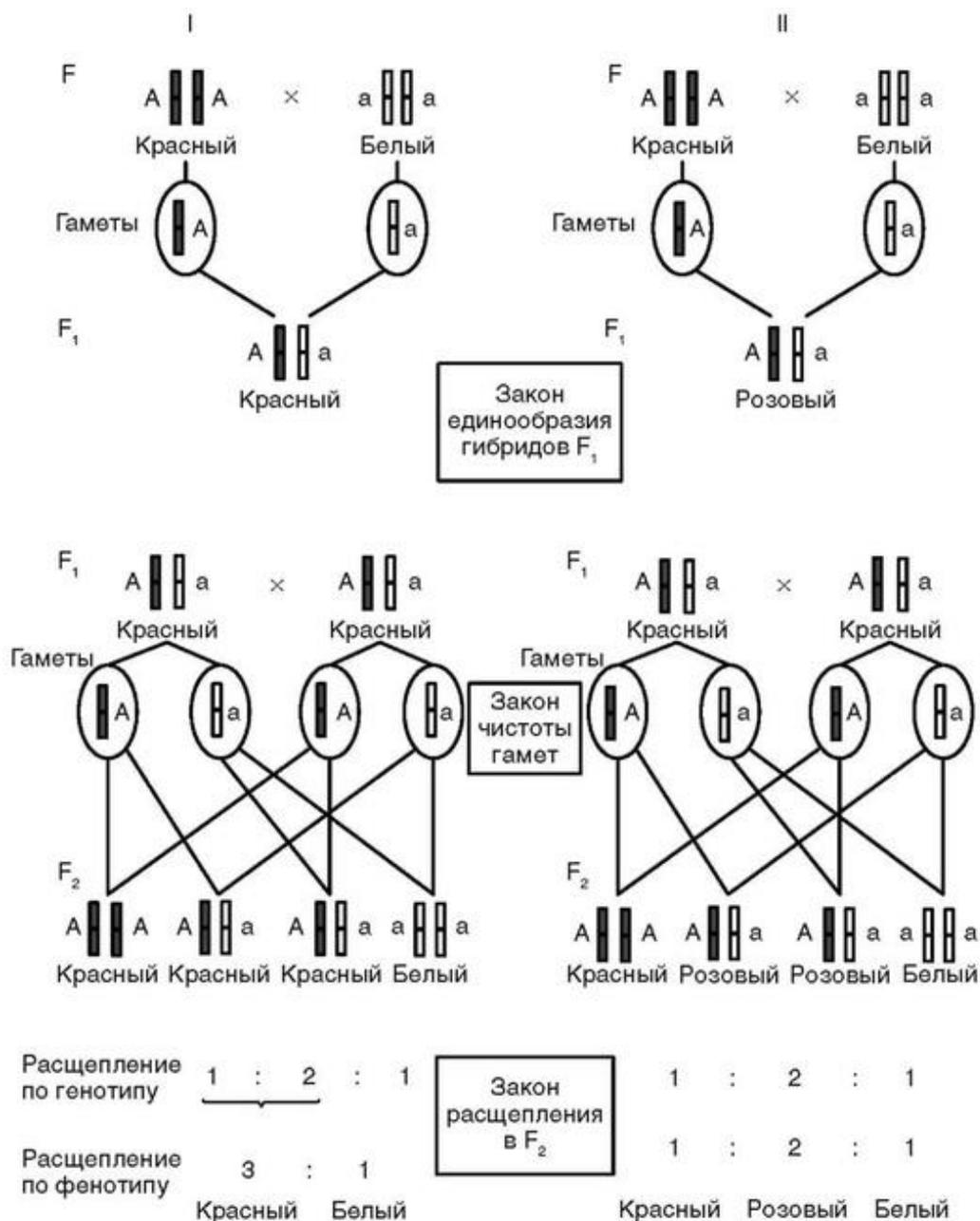


Рис. 4.31. Аутосомный тип наследования признака: I - при полном доминировании аллелей (цвет лепестков у гороха); II - при неполном доминировании - промежуточное наследование (цвет лепестков у ночной красавицы)

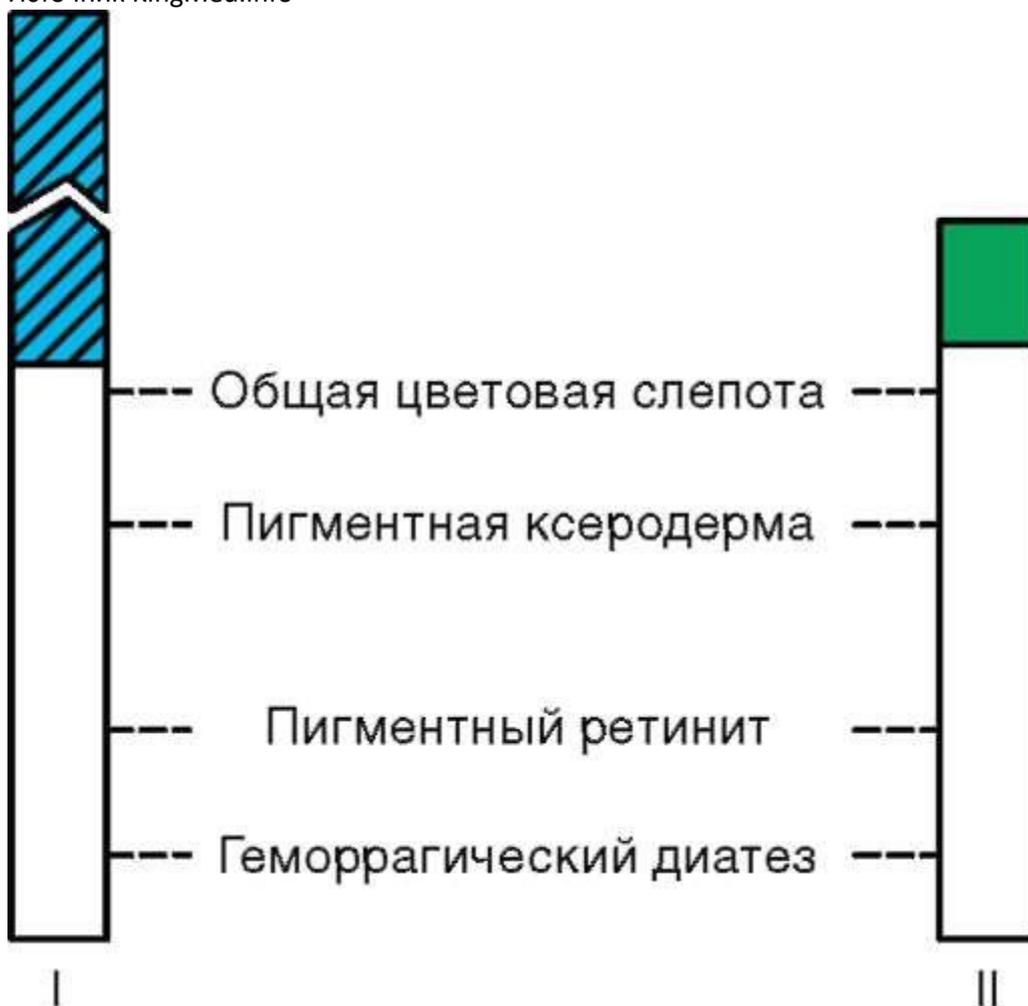


Рис. 4.32. Схема гомологичных и негомологичных локусов половых хромосом человека: I - хромосома X: заштрихованы локусы, отсутствующие в хромосоме Y (красно-зеленая цветовая слепота, гемофилия А и др.); II - хромосома Y: заштрихованы локусы, отсутствующие в хромосоме X (гены, участвующие в развитии фенотипа по мужскому типу, перепонки между пальцами)

Главная из этих особенностей - то, что передача в ряду поколений признаков, контролируемых генами хромосомы у, если эти гены не имеют гомологов в хромосоме x, происходит только по линии особей гетерога-метного пола - у людей мужского пола (рис. 4.34).

4.3.5.2. Еще раз о независимом наследовании. Соотносительное наследование нескольких признаков. Сцепленное наследование

Выше рассмотрены типы наследования отдельных признаков. Однако фенотип организма определяется совокупностью многих признаков, за развитие которых отвечают разные гены, принадлежащие одной, занимая в ней различные локусы, или разным группам сцепления (хромосомам). При этом обнаруживаются признаки, которые наследуются как независимо друг относительно друга, так и совместно (сцеплено).

Закон независимого наследования признаков сформулирован Г. Менделем по результатам наблюдений за наследованием одновременно двух признаков - цвета и формы горошин. Названный закон утверждает, что различные признаки, контролируемые неаллельными генами

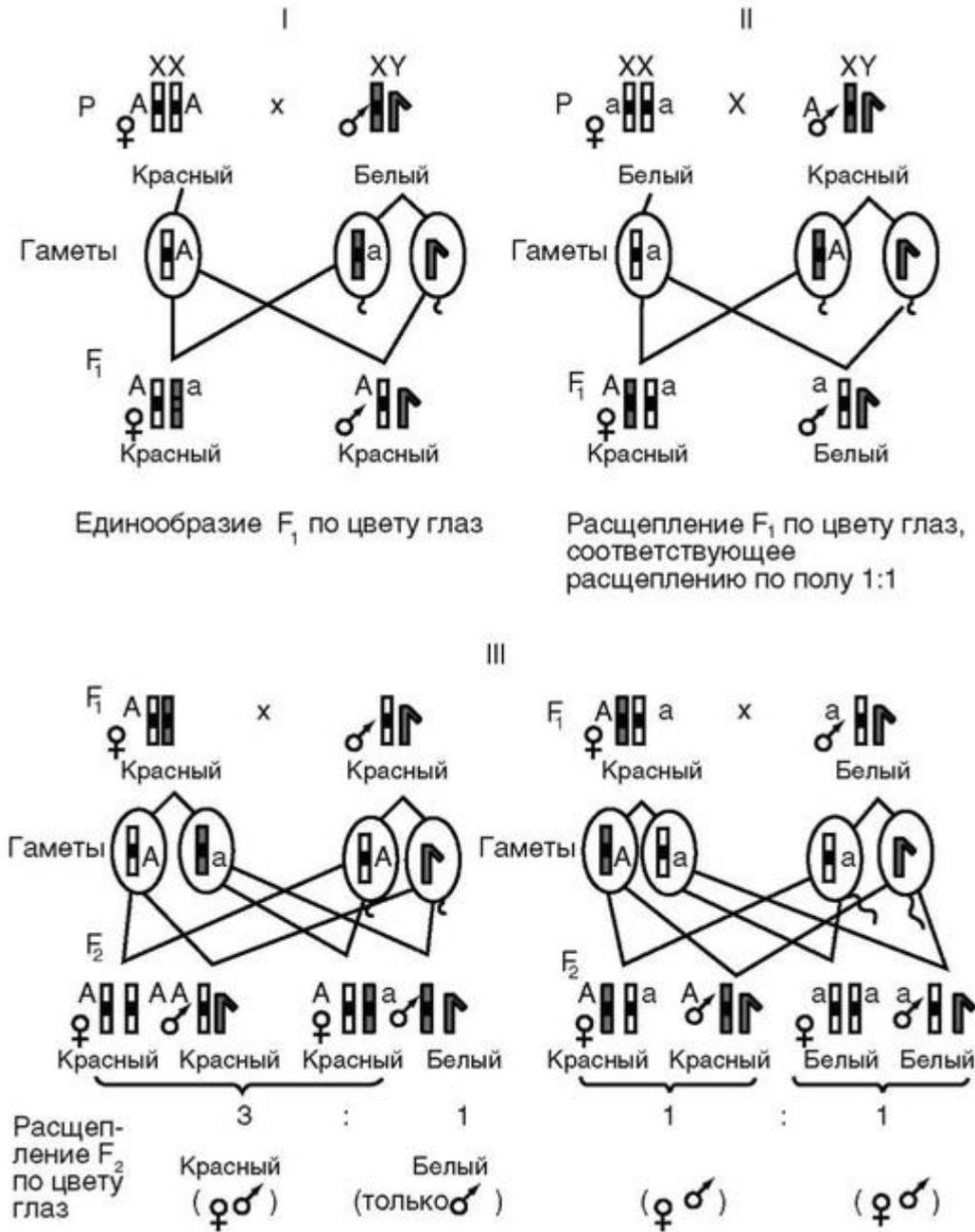


Рис. 4.33. Наследование, сцепленное с полом (окраска глаз у дрозофилы): I - сочетание половых хромосом в кариотипе представителей разного пола; II - гомогаметный пол образует один тип гамет, гетерогаметный - два; III - представители гомогаметного пола получают хромосомы X от обоих родителей, представители гетерогаметного пола получают единственную хромосому X от гомогаметного родителя, а хромосому Y - от гетерогаметного родителя. Окрашены отцовские хромосомы

(наследственными задатками), передаются от родителей потомству независимо друг от друга и обнаруживаются в фенотипах потомков во всех возможных сочетаниях (рис. 4.35).

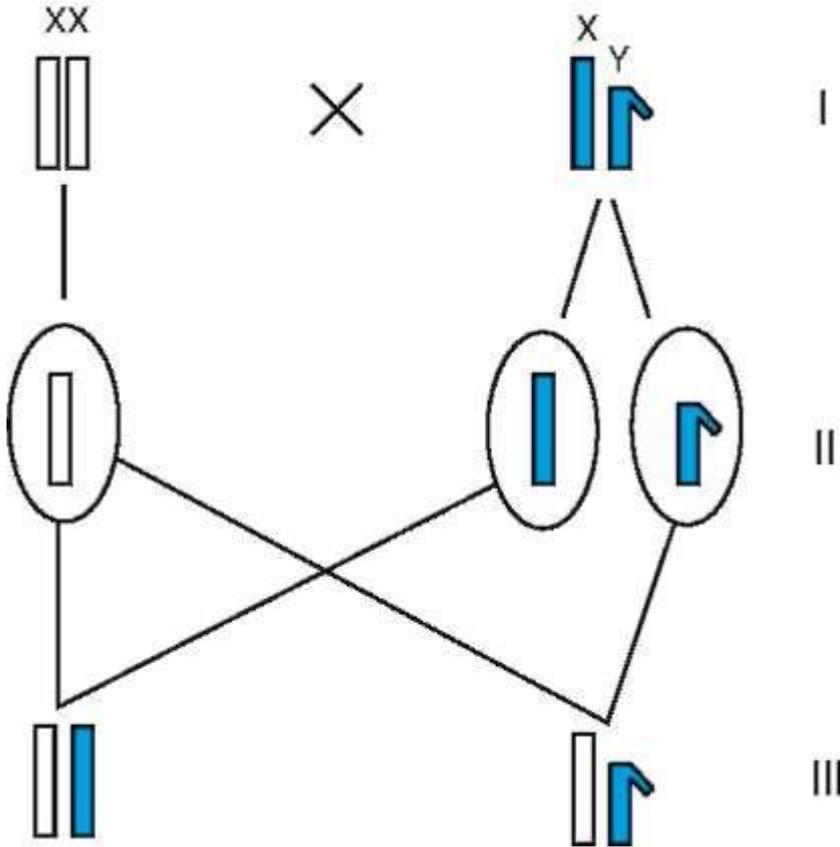


Рис. 4.34. Обоснование особенностей *X*-сцепленного и *Y*-сцепленного типов наследования поведением половых хромосом при образовании гамет особями гомо- и гетерогаметного пола и при оплодотворении: I - сочетание половых хромосом в кариотипах представителей разных полов; II - гомогаметный пол образует один тип гамет, гетерогаметный два; III - представители гомогаметного пола получают хромосомы от обоих родителей; представители гетерогаметного пола получают хромосому *X* от гомогаметного родителя, а хромосому *Y* от гетерогаметного родителя; это справедливо для генов, расположенных в негомологичных локусах хромосом *X* и *Y*; окрашены отцовские хромосомы

Очевидно, что этому закону должны подчиняться признаки, развитие которых контролируют неаллельные гены, находящиеся в разных (негомологичных) хромосомах. В таком случае независимый характер наследования двух признаков или более объясняется поведением негомологичных хромосом в мейозе. Названные хромосомы образуют со своими гомологами в первом делении мейоза пары (биваленты). В анафазе I мейоза гомологи каждой пары расходятся к полюсам делящейся клетки независимо от гомологов других пар. В результате гаплоидные хромосомные наборы будущих гамет на полюсах представлены случайными сочетаниями отцовских и материнских хромосом. Следовательно, различные гаметы содержат разные комбинации отцовских и материнских аллелей неаллельных генов.

Разнообразие вариантов образуемых гамет зависит от степени гетерозиготности организма и описывается формулой 2^n , где n – число локусов в гетерозиготном состоянии. В связи с этим дигетерозиготные гибриды первого поколения (F_1), рождаемые в скрещиваниях гомозиготных, по доминантным (один родитель - AB) и рецессивным (второй родитель - ab) аллелям анализируемых генов, проявляя в силу гетерозиготности и свойства доминантности-рецессивности аллелей ($AaBb$) фенотипическое единообразие по обоим наблюдаемым признакам, образуют четыре варианта гамет, причем с равной вероятностью каждого из вариантов.

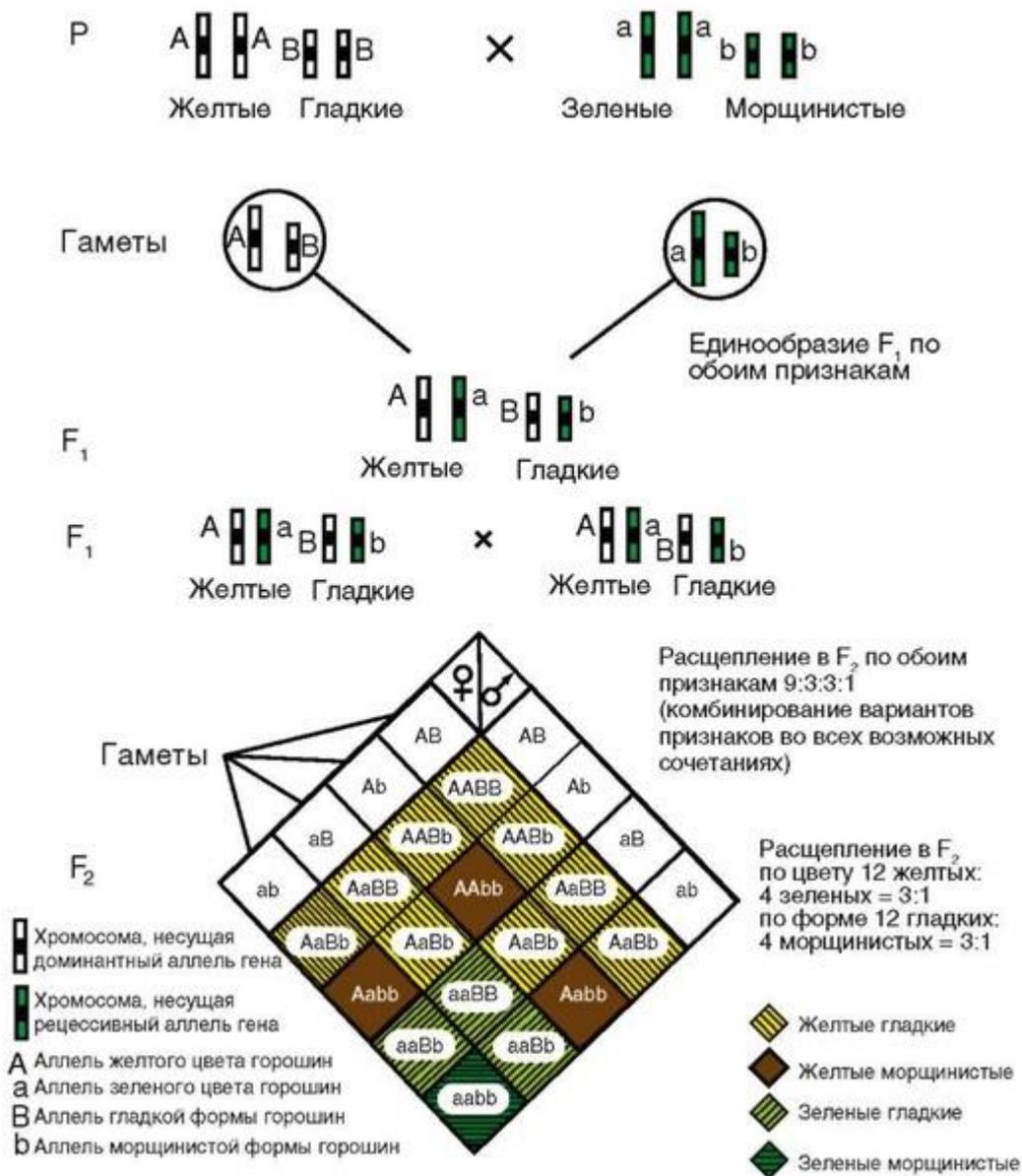


Рис. 4.35. Независимое наследование двух признаков (цвет и форма горошин)

При скрещивании гибридов F_1 между собой благодаря всем возможным комбинациям аллелей, присутствующих в гаметах указанных четырех вариантов, в случае независимого наследования двух признаков (**дигибридное скрещивание**) среди гибридов второго поколения (F_2) обнаруживается четыре фенотипические группы (в сравнении с F_1 происходит **расщепление по фенотипу**) потомков в отношении 9:3:3:1. Анализ потомства F_2 отдельно по каждой из двух наблюдаемых пар альтернативных признаков - цвет (зеленый или желтый) и форма (гладкая или морщинистая) горошин - выявляет наличие по каждой паре двух фенотипических групп (расщепление по фенотипу) потомков в отношении **3:1 (могибридное скрещивание)**.

В опытах Г. Менделя наследственная конституция гибридов F_1 ($AaBb$) устанавливалась путем анализа фенотипов потомства F_2 , получаемого при самоопылении растений-родителей (F_1). Эта же задача решается, если применяется так называемое **анализирующее скрещивание**. Оно заключается в скрещивании организма, генотип которого необходимо установить, с организмом-гомозиготой по рецессивному(ым) аллелю(ям) соответствующего(их) гена(ов) - рис. 4.36 (могибридное анализирующее скрещивание) и рис. 4.37 (дигибридное анализирующее

скрещивание). Так как гомозиготные родители образуют один тип гамет: aa -а (моногибридное скрещивание), $aabb$ - ab (дигибридное скрещивание), $aabbcc$ - abc (тригибридное скрещивание) и т.д., - при анализирующем скрещивании количество разных фенотипов потомков зависит от числа типов гамет организма с доминантным фенотипом. Если последний гомозиготен по анализируемым генам, то он тоже образует только один тип гамет, и потомство в анализирующем скрещивании отличается фенотипическим единообразием, так как все потомки имеют доминантный фенотип (см. рис. 4.35, I).

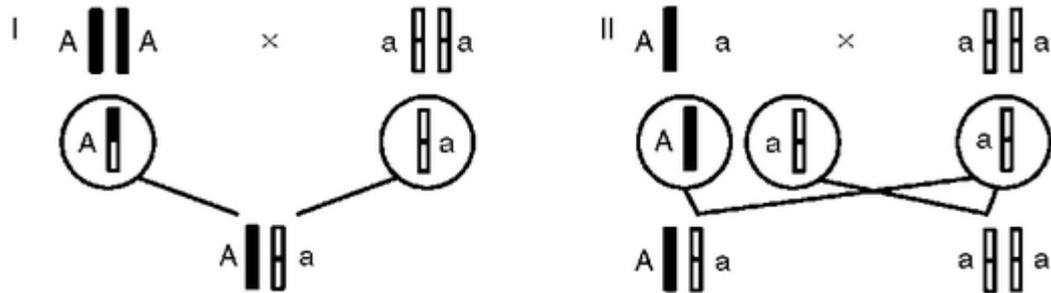


Рис. 4.36. Анализирующее моногибридное скрещивание. Объяснения в тексте

Если организм, генотип которого необходимо установить, гетерозиготен по одному гену, он образует два типа гамет, в силу чего при анализирующем скрещивании рождаются потомки двух разных фенотипов - один с доминантным и второй с рецессивным признаком (см. рис. 4.35, II). Дигетерозиготный организм дает при анализирующем скрещивании потомство с четырьмя разными фенотипами (см. рис. 4.37).

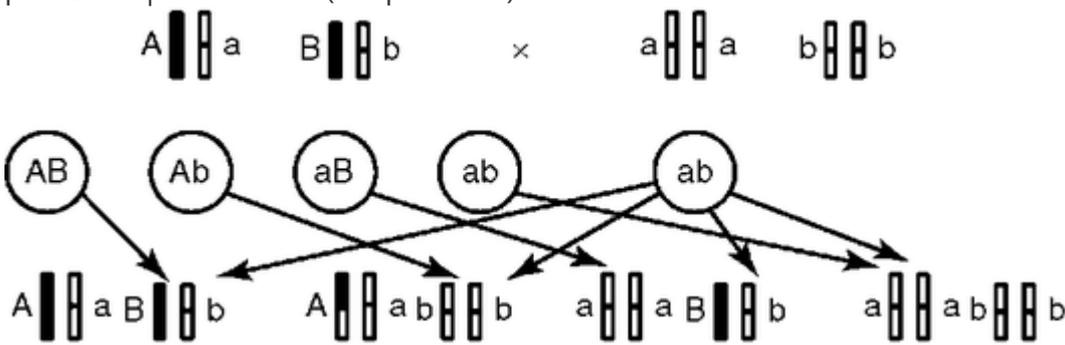


Рис. 4.37. Анализирующее дигибридное скрещивание. Объяснения в тексте

Признаки, контролируемые генами, находящимися в одной хромосоме, могут демонстрировать как независимый, если соответствующие локусы расположены относительно далеко - 50 морганид (сантиморганид) и более, так и **сцепленный тип наследования**. В такой ситуации признаки передаются потомству всегда или в определенном проценте случаев совместно. Подозрение в том, что феномен сцепленного наследования существует, возникло, когда было обнаружено, что результаты анализирующего скрещивания гибридов f_1 у дрозофил иногда отличались от ожидаемых, если исходить из исключительно независимого соотносительного наследования нескольких признаков (Т.Г. Морган). Конкретно у потомков в таких скрещиваниях вместо ожидаемого свободного комбинирования фенотипических признаков, контролируемых аллельными парами разных генов, наблюдали тенденцию к наследованию преимущественно родительских сочетаний признаков. Как уже отмечалось, в основе **сцепленного соотносительного наследования признаков** лежит расположение соответствующих генов в одной хромосоме. Именно это обстоятельство привело к тому, что каждая хромосома стала рассматриваться как отдельная группа сцепления. На рисунке 4.38 представлены результаты наследования признаков окраски тела и формы (длины) крыльев у дрозофилы, а также цитологическое обоснование этих результатов. При анализирующем скрещивании самцов

из f_1 появлялось всего два фенотипических вида потомков, сходных с родительскими формами по сочетанию вариантов анализируемых признаков (серая окраска тела и нормальные крылья; черная окраска тела и короткие крылья) в соотношении 1:1. Это указывает на образо-

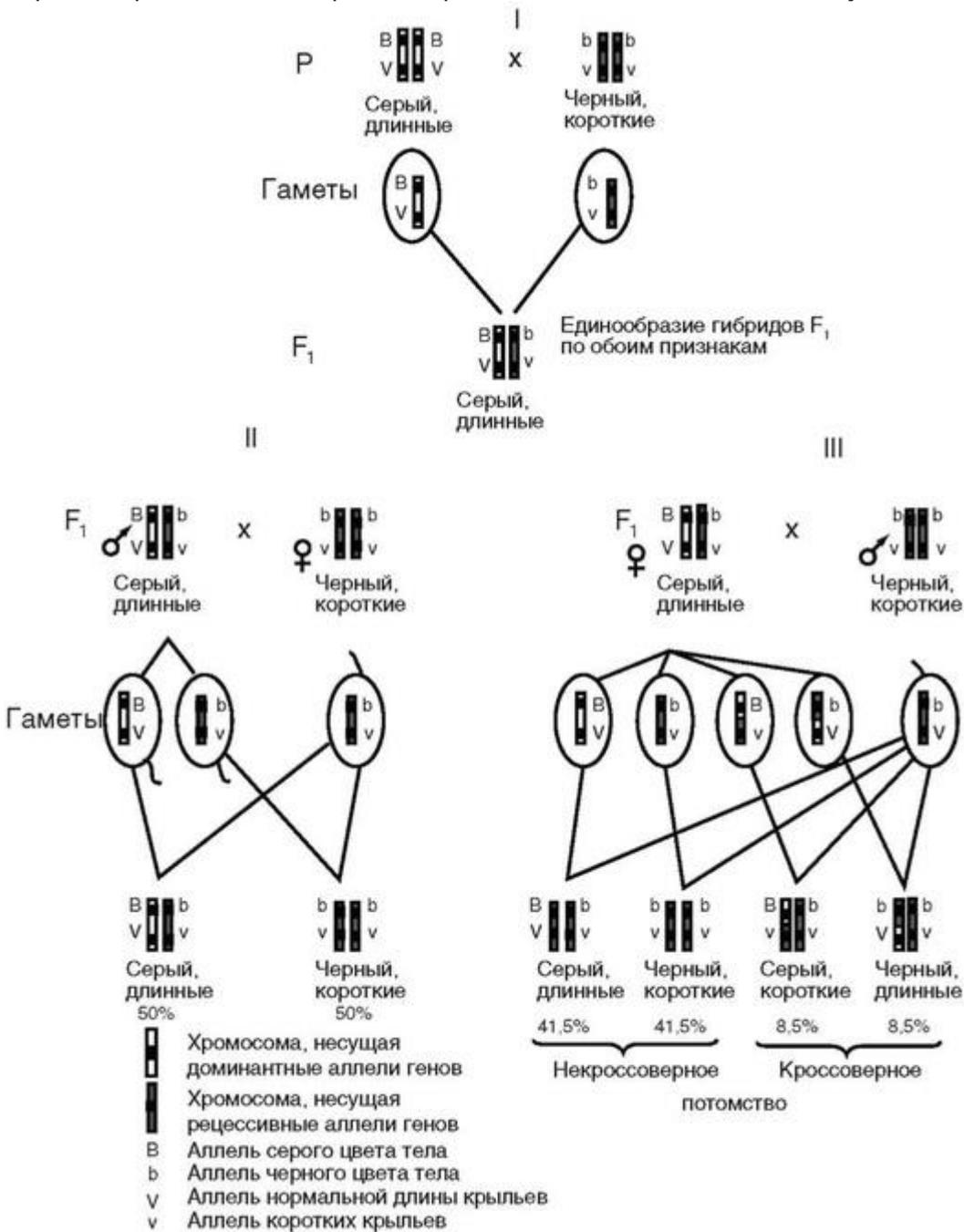


Рис. 4.38. Сцепленное наследование признаков (окраска тела и длина крыльев) у дрозофилы: I - скрещивание чистых линий; II и III - анализирующие скрещивания, соответственно самцов и самок из F_1

вание (с одинаковой вероятностью) самцами F_1 всего двух типов гамет, в которые попадают исходные (родительские) сочетания аллелей генов, контролирующих развитие названных признаков - окраска тела (B и b) и форма или длина крыльев (V и v). При анализирующем скрещивании самок F_1 обнаруживалось четыре фенотипических варианта потомков, практически со всеми возможными сочетаниями признаков. При этом потомки с родительским сочетанием признаков составили 83%. У 17% потомков - **кроссоверное потомство** - обнаруживались иные комбинации признаков (серая окраска тела и короткие крылья; черная окраска тела и

Источник KingMed.info

нормальные крылья). Видно, что в указанных скрещиваниях проявляется склонность к сцепленному наследованию либо доминантных, либо рецессивных признаков (83%). Частичное (17%) нарушение сцепления наследования признаков потомками объясняется процессом кроссинговера - обменом гомологичными участками между гомологичными хромосомами в профазе I мейоза.

Сцепленное соотносительное наследование двух признаков или более не следует путать с наследованием, сцепленным с полом. Напомним, что наследование, сцепленное с полом, выделяется на основании одного критерия - локализации соответствующего гена в половой хромосоме (X или Y).

Анализ соотносительного наследования сочетаний других признаков, прежде всего у плодовых мух дрозофил, показал, что процент кроссоверного потомства для каждой пары признаков всегда один и тот же, но различается для разных пар. Это послужило основанием для заключения о том, что гены («наследственные задатки», по Г. Менделю) располагаются в хромосомах в линейном порядке, причем разные (негомологичные) хромосомы представляют собой группы сцепления определенных генов. Напротив, гомологичные хромосомы - это группы сцепления одних и тех же генов, которые, однако, в гомологах могут быть представлены разными аллелями. В профазе I мейоза гомологи каждой пары конъюгируют, т. е. сближаются с точным противостоянием гомологичных локусов (другими словами, аллелей соответствующего гена). Затем благодаря кроссинговеру хромосомы в парах гомологов могут обмениваться гомологичными участками. Если обмениваемые участки гомологичных хромосом представлены разными аллелями гена, занимающего локус, обмен приводит к изменению аллельного состава каждой из гомологичных хромосом (один из факторов генотипической комбинативной изменчивости). Следовательно, потомок, получив в результате акта оплодотворения хромосому с измененным аллельным набором, будет отличаться от родителя определенными фенотипическими особенностями.

Частота, с которой происходит обмен на участке хромосомы между двумя конкретными генами, зависит от расстояния между ними (правило Т. Моргана). Другими словами, при увеличении расстояния между генами одной хромосомы (группы сцепления) вероятность кроссинговера между ними растет, однако даже в случае осуществления обмена между генами данной пары во всех клетках-предшественницах половых клеток процент **кроссоверных гамет** не превышает 50. Это происходит потому, что в акте кроссинговера участвуют две хроматиды из четырех, имеющих в каждом биваленте (рис. 4.39). С увеличением расстояния между генами в группах сцепления растет вероятность того, что на соответствующем участке одновременно произойдет несколько кроссинговеров. Так как каждый второй перекрест (кроссинговер) приводит к восстановлению в хромосоме прежнего сочетания аллелей, то с ростом расстояния между генами количество кроссоверных гамет может не увеличиваться, а уменьшаться. Следовательно, процент кроссоверных гамет представляет собой адекватный показатель расстояния между двумя генами, только если они находятся на достаточно близком расстоянии, когда исключается вероятность второго кроссинговера.

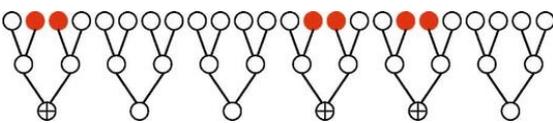


Рис. 4.39. Схема, поясняющая низкий процент кроссоверных гамет для двух генов. Плюсом обозначены клетки-предшественницы гамет, в которых на участке между двумя избранными локусами произошел кроссинговер; красным цветом обозначены кроссоверные гаметы

Источник KingMed.info

Различают **неполное (частичное)** и **полное сцепление**. Полное сцепление (фактически отсутствие кроссинговера) может быть видовой характеристикой гаметогенеза у представителей одного из полов, например у самцов дрозофилы.

Применение анализирующего скрещивания дает возможность выяснить не только генный состав отдельных групп сцепления (хромосом), но также установить расстояние между генами.

4.3.5.3. Еще раз о наследовании признаков, развитие которых обусловлено взаимодействием неаллельных генов

На характер наследования в ряду поколений особей сложных фенотипических признаков определенное влияние оказывает взаимодействие неаллельных генов. Различные комбинации аллелей таких генов могут привести к появлению нового варианта признака, к исчезновению признака, к изменению формы его проявления у потомков. Взаимодействующие неаллельные гены, сами по себе, могут наследоваться друг относительно друга независимо или сцеплено. Это влияет на частоту, с которой у потомства появляются комбинации аллелей, соответствующие тому или иному фенотипическому результату известных со времен классической генетики вариантов взаимодействия неаллельных генов - полимерия, комплементарность, эпистаз (см. п. 4.3.3.1).

Ниже будут рассмотрены закономерности наследования признаков в случае **независимого наследования взаимодействующих неаллельных генов**.

4.3.5.3-а. Наследование при полимерном взаимодействии неаллельных генов

Когда состояние признака определяется совокупным действием нескольких неаллельных генов, каждый из которых в силу диплоидности эукариот представлен в генотипе соматических клеток парой аллелей, причем действие этих генов характеризуется аддитивным (добавляющим, прибавляющим, кумулятивным: от англ.: *additive* - помогающий нарастить) фенотипическим эффектом, в поколениях организмов встречаются особи с разной степенью выраженности наблюдаемого признака, что зависит от суммарной дозы аллелей соответствующих генов.

Выше рассмотрен пример **полигенного полимерного наследования** такого признака, как степень пигментации кожных покровов человека, в развитии которого принимают участие четыре неаллельных гена (четыре пары аллелей). В развитие того, о чем в связи с этим примером уже говорилось (см. п. 4.3.3.1), отметим, что в браке мулата и мулатки, гетерозиготных по всем четырем генам (генотипы родителей одинаковы - $P_1p_1P_2p_2P_3p_3P_4p_4$) и вследствие этого образующих каждый $2^4=16$ типов гамет, среди детей $1/256$ часть характеризуется вероятностью иметь максимально пигментированную кожу, еще $1/256$ часть - минимально пигментированную кожу, тогда как остальные - это дети с промежуточными значениями интенсивности пигментации кожных покровов (см. рис. 4.17).

Известны примеры, когда доминантные и рецессивные аллели **полигенов** обуславливают развитие разных вариантов признака. Так, в генотипе растения «пастушья сумка» присутствуют два гена, совместно контролирующей такой признак, как форма стручка. При скрещивании дигетерозигот по указанным генам (рис. 4.40) среди потомков наблюдается расщепление по фенотипу в отношении **15:1**, где $15/16$ потомства имеет от одного до четырех доминантных аллелей соответствующей пары генов (один фенотип), а $1/16$ не имеет в генотипе доминантных аллелей вообще (другой фенотип).

4.3.5.3-б. Наследование при комплементарном взаимодействии неаллельных генов

Если формирование фенотипического признака требует комплементарного (взаимодополняющего: от англ.: *complementary* - дополнительный, добавочный) действия определенных аллелей неаллельных генов, то такой признак может появиться только у тех особей, в генотипе которых имеется требуемая комбинация, в частности, доминантных аллелей взаимодействующих генов. Другими словами, признак в определенном своем состоянии воспроизводится в фенотипе исключительно при наличии в генотипе доминантных аллелей соответствующих генов и не воспроизводится при отсутствии доминантного аллеля хотя бы одного из них. В таком случае при скрещивании дигетерозиготных особей между собой анализируемый признак обнаруживается у части потомков - $9/16$, тогда как у остальных - $7/16$ он отсутствует (рис. 4.41).

Известны также ситуации, когда каждый из взаимодействующих в формате комплементарности неаллельных генов при отсутствии доминантного аллеля другого гена дает свой вариант признака, тогда как, будучи оба представленными в генотипе доминантными аллелями, они, взаимодействуя, дают другой вариант признака (рис. 4.42).

У людей два неаллельных гена, контролирующие отложение в волосах черного и красного пигментов, что обуславливает известные варианты естественного цвета волос, при определенных сочетаниях аллелей дают новый признак - особый блеск волос (глянцевитые и/или лоснящиеся волосы).

4.3.5.3-в. Наследование при эпистатическом взаимодействии неаллельных генов

Вспомним, что в случае **эпистаза** один из генов (Б) проявляет себя фенотипически только при отсутствии в генотипе определенного аллеля другого гена (А). Строго говоря, эпистатическое взаимодействие не-

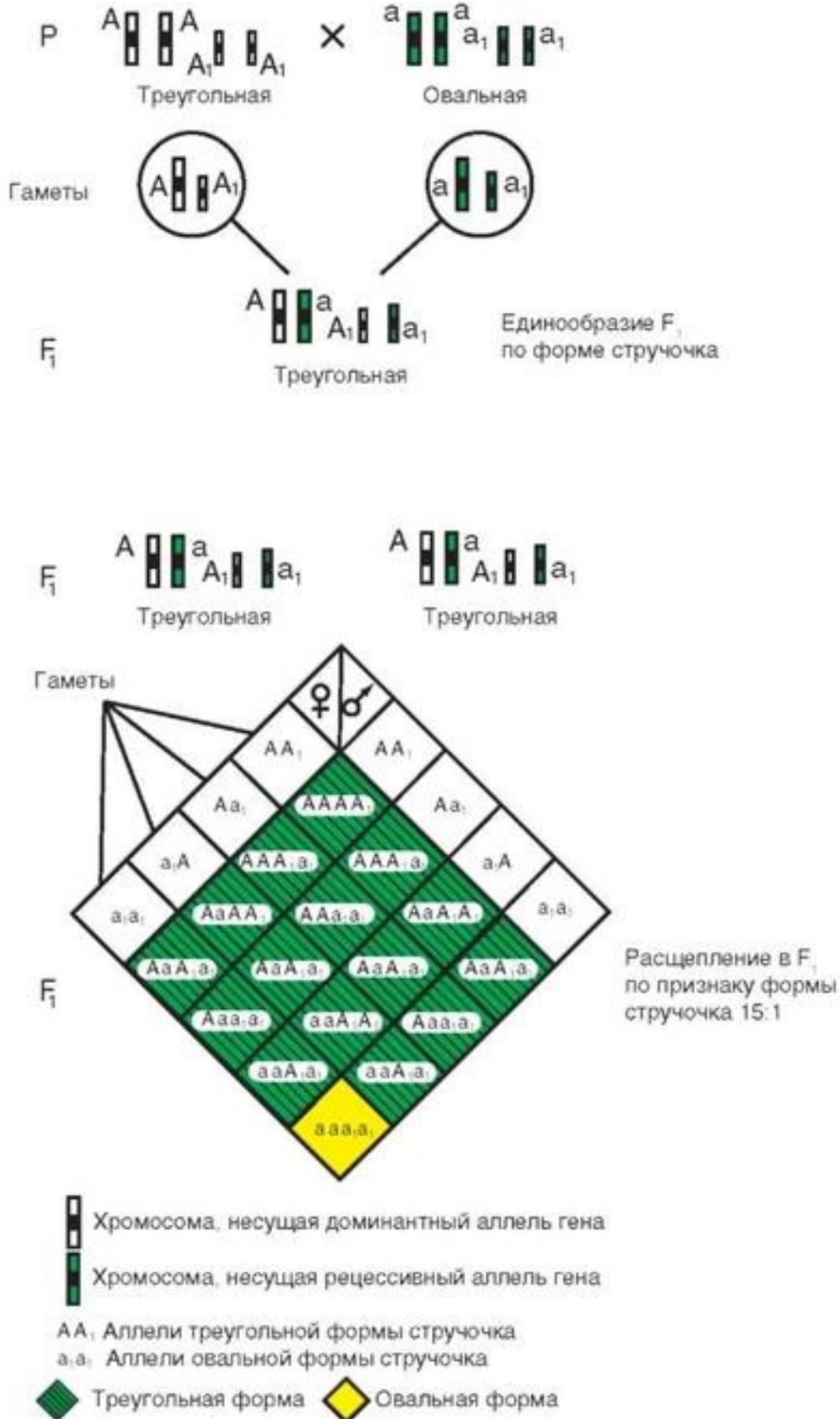


Рис. 4.40. Полимерное наследование формы стручка у пастушьей сумки: AA_1 — хромосома с доминантным аллелем гена; aa_1 — хромосома с рецессивным аллелем гена; AA_1 — комбинация аллелей двух генов, дающая треугольную форму стручочка; aa_1 — комбинация аллелей двух генов, дающая овальную форму стручочка

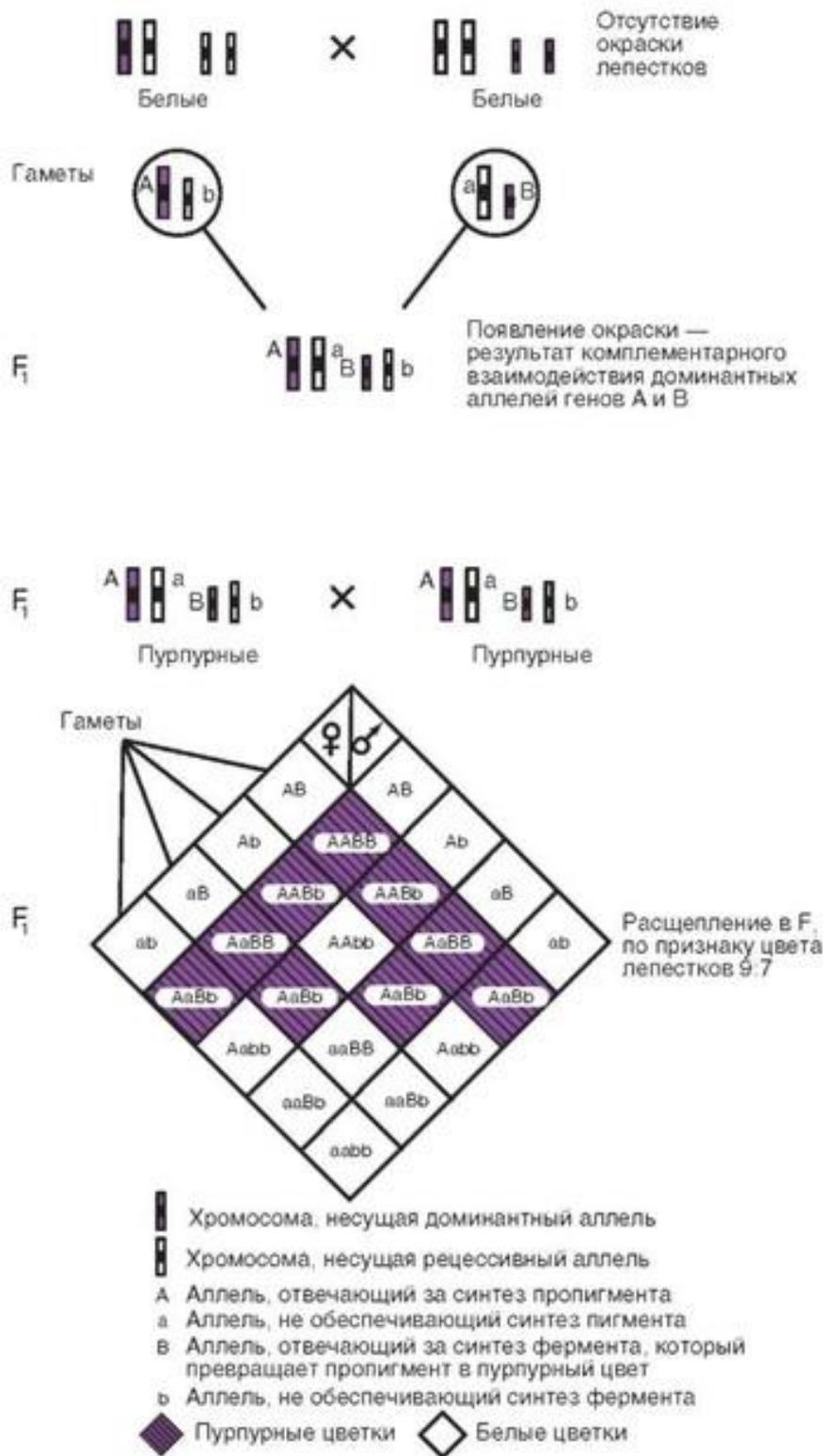


Рис. 4.41. Комплементарное взаимодействие неаллельных генов в наследовании окраски лепестков у душистого горошка: — хромосома с доминантным аллелем; — хромосома с рецессивным аллелем; А — аллель, обеспечивающий синтез пропигмента (бесцветная форма); а — аллель, не обеспечивающий синтез пропигмента; В — аллель, обуславливающий синтез фермента, который превращает пропигмент в пурпурный пигмент; в — аллель, не обуславливающий синтез фермента. Растения с пурпурными цветками — заштрихованные квадраты, растения с белыми цветками — незаштрихованные квадраты

Источник KingMed.info

аллельных генов можно рассматривать как вариант комплементарного взаимодействия неаллельных генов. Действительно, речь, по существу, идет о том, что и при эпистазе в части соответствующих признаков фенотипы особей зависят от конкретного сочетания в их генотипах аллелей неаллельных генов. Соответственно, расщепление по фенотипу среди потомков от скрещивания дигетерозигот по генам анализируемых признаков может быть различным.

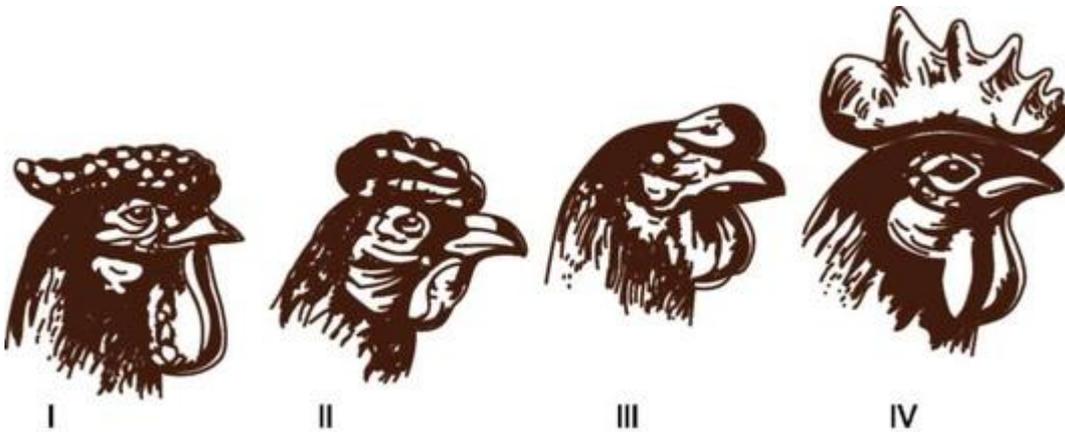


Рис. 4.42. Комплементарное взаимодействие неаллельных генов в наследовании формы гребня у кур: I - $A?bb$ - розовидная; II - $aaB?$ - гороховидная; III - $A?B?$ - ореховидная; IV - $aabb$ - листовидная

При **доминантном эпистазе**, когда доминантный аллель одного гена (генотипы - AA или Aa) препятствует фенотипическому проявлению любого из аллелей (генотипы - BB , Bb или bb) другого гена, расщепление по фенотипу может быть в отношении **12:3:1** или **13:3** (рис. 4.43). При **рецессивном эпистазе** ген, определяющий развитие какого-либо признака (B), не проявляет себя в фенотипе у рецессивных гомозигот (генотипы - aa) по другому гену (A). Расщепление по фенотипу среди потомства от скрещивания дигетерозигот даст соотношение **9:3:4** (рис. 4.44).

Примером рецессивного эпистаза у людей является «бомбейский феномен», рассмотренный ранее (см. п. 4.3.3.1).

Приведенные выше соотношения особей с разными фенотипами среди потомства (расщепление по фенотипу), получаемого в скрещиваниях гетерозигот или в анализирующих скрещиваниях, в ситуациях, когда имеет место взаимодействие неаллельных генов, так же как в случаях моноили дигибридного скрещивания при моногенном независимом и других типах наследования, носят вероятностный характер. Эти соотношения регистрируются исследователем только, если в гаметогенезе образуются все возможные генотипические варианты гамет, которые в равной мере жизнеспособны, вследствие оплодотворения возникают все возможные при данном генотипическом ассортименте гамет гено-типические варианты зигот, и все развивающиеся из этих зигот особи одинаково жизнеспособны. При этом потомство должно быть многочисленным, что делает результаты статистической обработки материала свободными от случайных искажений. При выполнении перечисленных условий **гибридологический метод генетического анализа**, разработанный Г. Менделем, является надежным инструментом познания закономерностей наследования признаков (у растений и у животных, исключая мир человека).

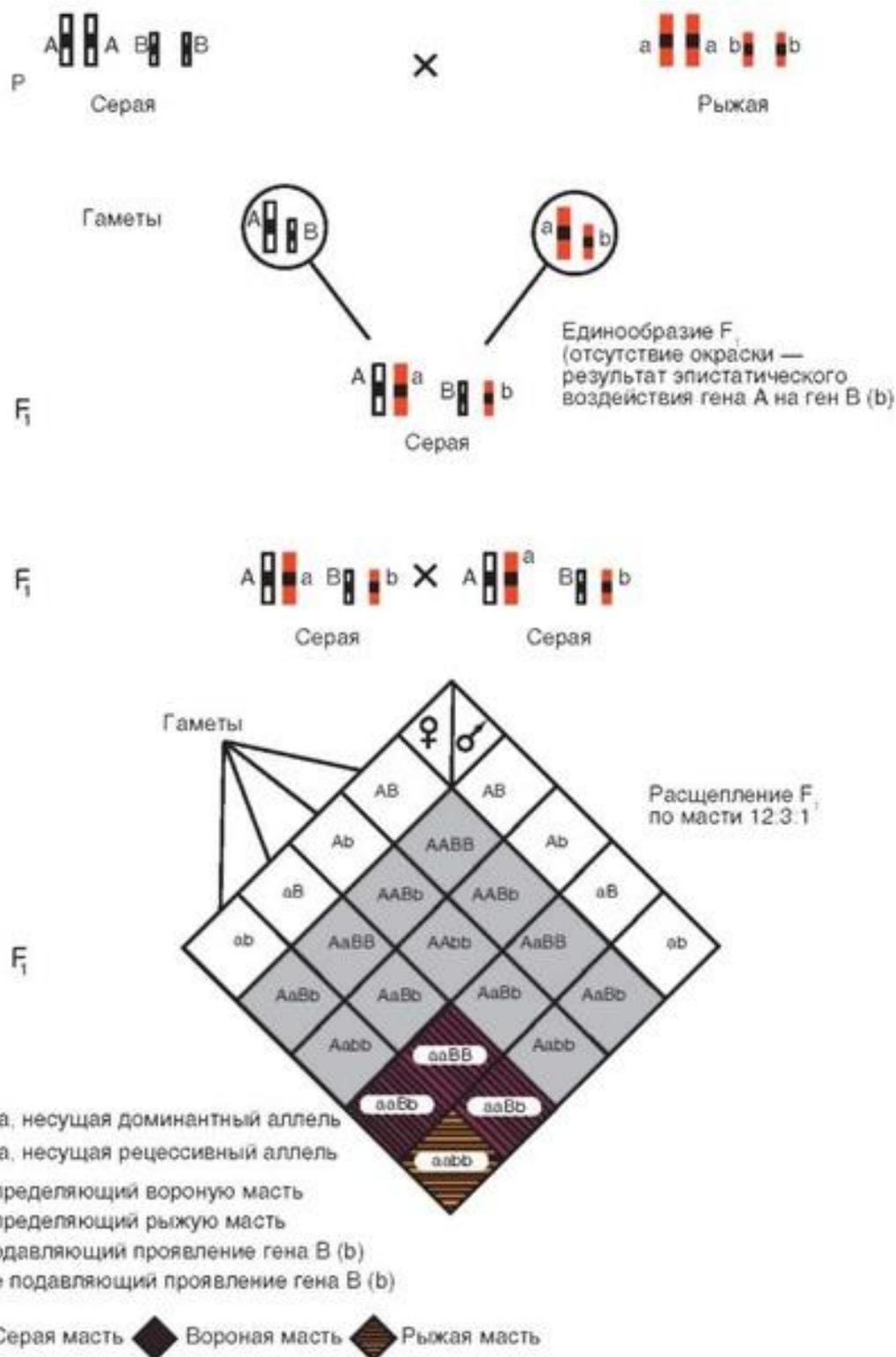


Рис. 4.43. Доминантный эпистаз в наследовании масти у лошадей: ■ — хромосома с доминантным аллелем; ■ — хромосома с рецессивным аллелем; B — аллель вороной масти; b — аллель рыжей масти; A — аллель, подавляющий фенотипическое проявление аллелей (B и b) гена B; a — аллель, не подавляющий фенотипическое проявление аллелей (B и b) гена B. Серая масть — серые квадраты; вороная масть — косая штриховка; рыжая масть — горизонтальная штриховка

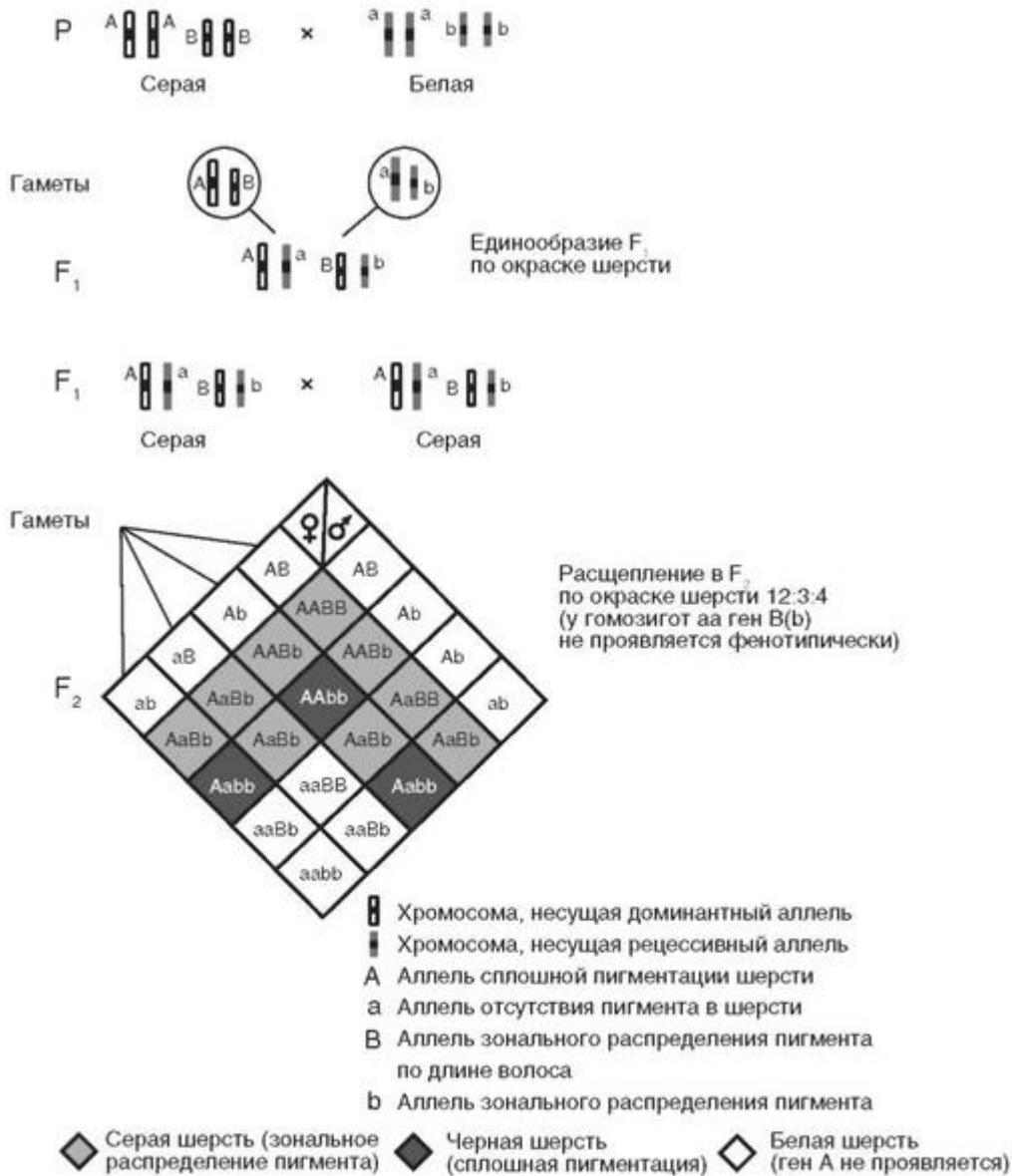


Рис. 4.44. Рецессивный эпистаз в наследовании пигментации шерсти у мышей: \parallel – хромосома с доминантным аллелем; \parallel – хромосома с рецессивным аллелем; A – аллель сплошной пигментации шерсти; a – аллель отсутствия пигментов; B – аллель зонального распределения пигментов по длине волоса; b – аллель отсутствия зонального распределения пигментов по длине волоса. Рыжевато-серая шерсть (агути) – зональное распределение пигмента (серый цвет); черная шерсть – сплошное распределение пигмента (черный цвет); белая шерсть – отсутствие пигмента вследствие того, что ген A «молчит» (незаштрихованные квадраты)

4.3.6. НАСЛЕДОВАНИЕ ПРИЗНАКОВ, ОБУСЛОВЛИВАЕМОЕ ВНЕЯДЕРНЫМИ ГЕНАМИ. ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКАЯ НАСЛЕДСТВЕННОСТЬ

Порядка 10% ДНК эукариотической клетки связано не с ядерными структурами (хромосомами), а с внутриклеточными образованиями преимущественно цитоплазматической локализации, в частности с митохондриями и пластидами (растительные клетки). Внеядерные (внехромосомные) генетические элементы также участвуют в формировании фенотипических признаков в процессе индивидуального развития и жизнедеятельности организма. Вместе с тем наследование признаков, контролируемых генетическими элементами внеядерной локализации (**цитоплазматическими генами, цитоплазматической ДНК**), характеризуется

своими особенностями - **цитоплазматическая наследственность**. Оно не следует правилам наследования признаков (см. табл. 4.3), установленным Г. Менделем - **неменделевское наследование** - и вытекающим из закономерного поведения хромосом при митозе, мейозе и оплодотворении (см. п. 4.3.2 и 4.3.2.1). Так как организм, развивающийся из зиготы, образующейся в результате оплодотворения, получает цитоплазматические структуры, в частности митохондрии, исключительно от яйцеклетки, цитоплазматическое наследование соответствующих признаков осуществляется по материнской линии.

Цитоплазматический тип наследования характерен для признака «пестрые листья» у некоторых растений. Наличие названного признака обусловлено мутацией в ДНК хлоропластов, фенотипически проявляющейся в нарушении образования зеленого пигмента хлорофилла. Размножение в растительных клетках нормальных (зеленых) и мутантных (бесцветных) пластид с последующим их случайным распределением между дочерними клетками приводит к появлению единичных клеток, совершенно лишенных окрашенных хлоропластов. Потомство (клон) этих клеток образует обесцвеченные зоны в листьях. Фенотип потомков по анализируемому признаку зависит от фенотипа материнского растения. У растения с зелеными листьями потомство нормальное. У растения с бесцветными листьями потомство имеет такой же фенотип - листья неокрашены. У материнского растения с пестрыми листьями потомки могут иметь все возможные фенотипы по указанному признаку - листья от полностью зеленых до полностью бесцветных, а также всевозможные переходные (промежуточные) формы (рис. 4.45). При этом

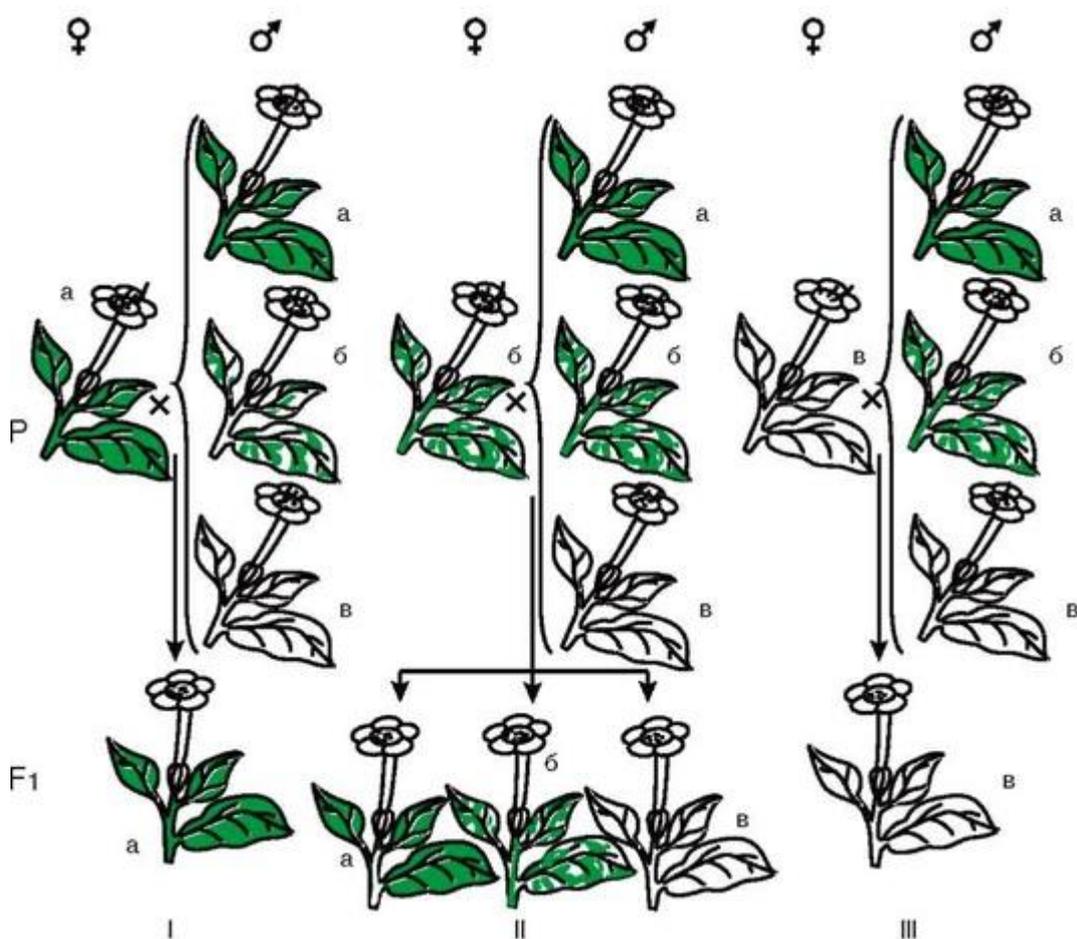


Рис. 4.45. Наследование признака «пестрые листья» у ночной красавицы: а - зеленые листья; б - пестрые листья; в - белые листья; I, II, III - результаты скрещивания разных материнских растений (а, б, в) с разными отцовскими

состояние листьев растений-потомков не зависит от фенотипа листьев отцовского растения.

Цитоплазматический тип наследования признаков, обусловленный митохондриальной ДНК (мтДНК, хромосома *M*), характеризуется своими особенностями прежде всего в связи с тем, что принципиальные структурно-функциональные параметры указанных органелл либо находятся под генетическим контролем ядерных генов, либо требуют адекватного взаимодействия элементов ядерного и митохондриального геномов (см., например, п. 4.3.1.3). В современной медицинской генетике существует самостоятельный раздел - митохондриальные наследственные болезни.

4.3.7. ФЕНОТИП ОРГАНИЗМА. РОЛЬ НАСЛЕДСТВЕННОСТИ И СРЕДЫ В ФОРМИРОВАНИИ ФЕНОТИПА

Любой организм характеризуется наличием генотипа и фенотипа (см. п. 1.3), что связано с двумя обстоятельствами, необходимыми для земной белково-нуклеиновой жизни. Во-первых, существование живых форм возможно лишь в их взаимодействии со средой обитания - источником энергии и «строительных» (пластических) материалов. Во-вторых, эволюционно отобранная видоспецифичная биологически целесообразная, т.е. гарантирующая выживание и размножение, информация передается в ряду поколений. Это происходит в мире жизни обязательно, так как смена поколений - необходимое условие эволюции. Задача организации отношений со средой жизни в каждом поколении решается благодаря наличию фенотипа. Задача наработки новой, сохранения и передачи в ряду поколений видоспецифичной биологической (генетической) информации решается благодаря наличию генотипа. Напомним, что **генотип** эукариотического организма - это совокупность всех генов или, что в функционально-генетическом плане более точно, аллелей структурных (экспрессируемых, кодирующих аминокислотные последовательности полипептидов) генов, а также сайтов (нуклеотид-ных последовательностей) ДНК с другими функциями в диплоидном наборе хромосом. **Фенотип** организма - совокупность признаков, свойств и качеств отдельно взятой особи конкретного биологического вида. Благодаря этим признакам, свойствам и качествам особь осуществляет необходимое для жизнедеятельности организмов данного вида взаимодействие со средой обитания.

В фенотипе биоинформация представлена в ее актуализированной, т. е. участвующей в процессах жизнеобеспечения непосредственно, форме - прежде всего в виде ферментов, транспортных, структурных и других функциональных разновидностей белков. Биоинформация, представленная в генотипе, в обеспечении процессов жизнедеятельности прямо не участвует. Перевод биоинформации из «потенциальной» в «действующую» форму связан с формированием на основе определенного генотипа соответствующего этому генотипу фенотипа. Этот процесс осуществляется при активном участии и модифицирующем влиянии среды в ее широком понимании (см. п. 4.3.1.1).

Рассматривая соотносительную роль наследственности (генотип) и факторов среды (эпигенетических, внегенетических факторов) в оформлении фенотипа особи, следует исходить из сути такого генетического понятия, как норма реакции (см. п. 4.1.1), представлений о системном принципе организации и функционирования генома (см. п. 4.3.3.4) и генотипа (см. п. 4.3.1.1), что выражается в зависимости развития отдельных фенотипических признаков (см. п. 4.3.1) и фенотипа в целом не только от наличия соответствующих генов с присущими им свойствами (см. п. 4.3.1.1), но и от конкретных форм взаимодействия аллельных (см. п. 4.3.1.2) и неаллельных (см. п. 4.3.3.1) генов.

В отличие от классической (домолекулярной) генетики, современная генетика располагает сведениями о том, что многие сайты ДНК, не кодируя аминокислотные последовательности полипептидов, выполняют регуляторные, конценсусные, сервисные и другие функции (см. п. 4.3.3.2). Такие сайты участвуют в процессе формирования фенотипа, влияя на параметры транскрипции и трансляции структурных генов (см. пп. 2.4.5.5-а, 4.3.3.2), пост(после)транскрипционные (см. п. 2.4.5.5) и пост(после)трансляционные (см. п. 2.4.5.6) процессы. В генотипе особи присутствуют также гены, не определяющие развитие конкретных фенотипических признаков. В их функцию входит организация своеобразных «координатных сеток» или морфогенетических полей. Эти «сетки» или поля содержат позиционную информацию, благодаря чему клетки определяют свое положение в строящемся организме и, таким образом, осуществляют необходимую для оформления биологически зрелого или дефинитивного фенотипа траекторию развития (см. п. 4.3.3.2). Экзон/интронная организация (см. п. 2.4.5.5) и другие молекулярно-генетические особенности структуры генов эукариот, например наличие у гена нескольких промоторов, дают различный или несовпадающий по степени выраженности фенотипический результат мутаций в разных участках одного и того же гена (см. п. 5.2.2.3-в, пример с муковисцидозом), явления генокопирования и фенокопирования делают отношения между генотипом и фенотипом еще более сложными.

По мере накопления новых знаний, особенно в области функциональной геномики (см. пп. 1.1 и 2.4.3.4-д), при условии геномной паспортизации (см. предисловие, геномное тестирование или портретирование) населения представления о закономерностях оформления фенотипа организма на основе определенного генотипа будут приобретать все большую определенность. Учитывая интересы практического здравоохранения, развитие биомедицинской науки в названном направлении в высшей степени желательно. С одной стороны, это важно постольку, поскольку современная медицина располагает методами лечения и/или предотвращения (профилактики) развития нежелательного «проблемного» фенотипа при некоторых формах наследственной патологии. В указанных условиях возрастает значение точной диагностики генетического «дефекта». Так, наряду с классической фенилкетонурией I типа (см. п. 5.2.2.8, мутация гена с локализацией на длинном плече хромосомы 12, приводящая к функциональному дефициту фермента фенилаланин-4-гидроксилазы, участвующего в обмене соответствующей аминокислоты, поступающей в организм с пищей), известен ряд генотипических вариантов, дающих сходный патологический фенотип (явление генокопирования). Речь, в частности, идет о мутации гена с локализацией на коротком плече хромосомы 4, приводящей к дефициту фермента дигидроптеридинредуктазы - атипичная фенилкетонурия II типа. Известно, что ведение детей с неблагоприятным генотипом на безфенилаланиновой диете эффективно препятствует оформлению патологического фенотипа в случаях фенилкетонурии I типа, но практически не предотвращает развитие тяжелых неврологических нарушений (умственная отсталость, вплоть до идиотии) при фенилкетонурии II типа. С другой стороны, ускоренными темпами идет накопление знаний о генотипических основах мультифакториальных болезней, в развитии которых значительное место занимает наследственная предрасположенность (см. п. 5.2.2.8). И в этом секторе практической медицины эффективность лечебно-превентивных (профилактических) мероприятий зависит от точной информации о генетической конституции индивидуума (см. п. 5.2.2.3-в, г).

Важная роль в развитии фенотипа принадлежит факторам среды. Наряду с факторами генотипической среды (см. п. 4.3.1.1, среда 1-го порядка), о которых речь шла выше, свой вклад в оформление фенотипа вносят факторы внутренней среды (см. п. 4.3.1.1, среда 2-го порядка, в которой на период внутриутробного развития организма целесообразно выделять внутреннюю среду его самого - 2а и внутреннюю среду мате-

Источник KingMed.info

ринского организма, вынашивающего плод, - 2б) и, наконец, факторы внешней среды (см. п. 4.3.1.1, среда 3-го порядка).

Можно заключить, что переход «потенциальной» биоинформации генотипа в «актуализированную» действующую биоинформацию фенотипа - сложный процесс. Это обстоятельство при отсутствии знаний о химической природе вещества наследственности, функционально-генетическом многообразии нуклеотидных последовательностей ДНК и тонкой структуре генов, о сути пост(после)транскрипционных и пост(после)трансляционных событий, о механизмах влияния на функциональную активность генов факторов среды 2а и 2б порядка (сигнальные молекулы в форме транскрипционных и ростовых факторов, гормонов, цитокинов и других биологически активных веществ-регуляторов, определяющих поведение клеток, а также узнающие эти молекулы клеточные рецепторы, молекулы-участницы внутриклеточных сигнальных путей) способствовало появлению в классической генетике, опиравшейся практически исключительно на результаты анализа закономерностей наследования признаков, таких важных, в том числе для практики МГК (см. п. 5.2.2.8), связывающих генотип и фенотип организма генетических понятий, как «пенетрантность», «экспрессивность» и «генетическая гетерогенность» (см. п. 4.3.1.1), «широкая» или «узкая» норма реакции (см. п. 4.1.1). Только сейчас, благодаря успехам молекулярной генетики и клеточной биологии, появляется возможность представить себе механизмы, составляющие основу перечисленных генетических феноменов (см. п. 4.3.3.1).

Использование генотипической биоинформации в целях структурно-функционального обеспечения процессов жизнедеятельности путем ее перевода в фенотипическую биоинформацию осуществляется постоянно на всем протяжении жизни особи. Вместе с тем наиболее энергично это происходит в связи с формированием дефинитивного (состояние биологической, а для человека и социальной, зрелости) фенотипа организма. Для млекопитающих, в том числе человека, - это внутриутробный и ранний постнатальный периоды онтогенеза.

4.3.7.1. Участие генетических и внегенетических (средовых, эпигенетических) факторов в развитии фенотипических признаков пола особи

На ранних стадиях развития земной жизни размножение живых форм происходило **бесполом** путем. И сейчас бесполом способом размножаются прокариоты. Типичный пример бесполого размножения у эукариот - митотическое деление клетки. Бесполое размножение встречается у современных эукариотических организмов среди простейших одноклеточных форм, в том числе ведущих паразитический образ жизни (шизогония у малярийного плазмодия), а также среди низкоорганизованных многоклеточных (гидры, кольчатые черви). Бесполое размножение путем образования почек, стеблевых и корневых клубней, луковиц характерно для растений. В процессе исторического развития живых форм возник **половой процесс**, представляющий собой способ увеличить биоинформационное разнообразие потомства и таким образом расширить возможности действия естественного отбора. Представление о половом процессе дает явление **конъюгации**, например, у инфузорий. Оно заключается во временном соединении двух особей с целью обмена (рекомбинации) наследственным материалом. В результате образуются организмы, генетически отличные от каждого из участников конъюгации. Затем такие особи размножаются бесполом путем. Поскольку при конъюгации количество инфузорий не увеличивается, говорить о размножении в прямом смысле нет оснований. Можно заключить, что первоначально половой процесс не решал задачи размножения. Порядка 3 млрд лет назад в ходе эволюции возникает **половое размножение**, типичные черты которого - образование **половых клеток** или **гамет** (рис. 4.4б)

Источник KingMed.info

и **оплодотворение**. Соответственно жизненный цикл представителей видов, размножающихся половым путем, представлен двумя фазами (рис. 4.47) - **диплофазой** (половозрелая особь, соматические клетки, характеризующиеся диплоидным или $2n$ числом хромосом и $2c$ количеством ДНК) и **гаплофазой** (гаметы, характеризующиеся гапло-

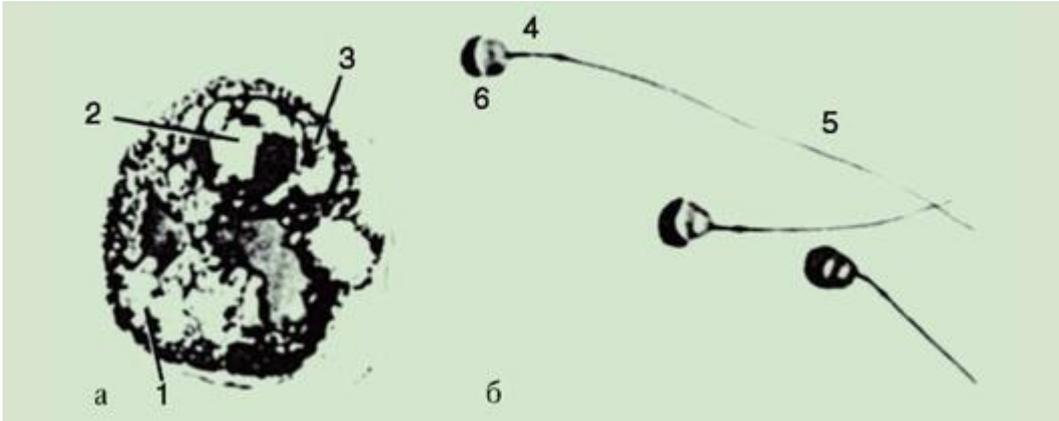


Рис. 4.46. Половые клетки: а - яйцеклетка; б - сперматозоиды: 1 - цитоплазма; 2 - ядро; 3 - хроматин ядра; 4 - шейка; 5 - жгутик; 6 - головка

идным или n числом хромосом и с количеством ДНК). В основе процесса образования половых клеток (гаметогенез) лежит особая форма клеточного деления - мейоз, обеспечивающая доведение числа хромосом до гаплоидного. Одновременно первое деление мейоза, благодаря кроссинговеру в профазе и независимому расхождению негомолгичных хромосом материнского и отцовского происхождения в анафазе (см. п. 4.3.4), служит эффективным инструментом комбинативной генотипической изменчивости (см. п. 4.1.1). Оплодотворение, еще один инструмент комбинативной генотипической изменчивости, заключается в слиянии двух половых клеток с восстановлением типичного для соматических клеток особей соответствующего вида диплоидного числа хромосом (см. п. 4.3.4, кариотип).

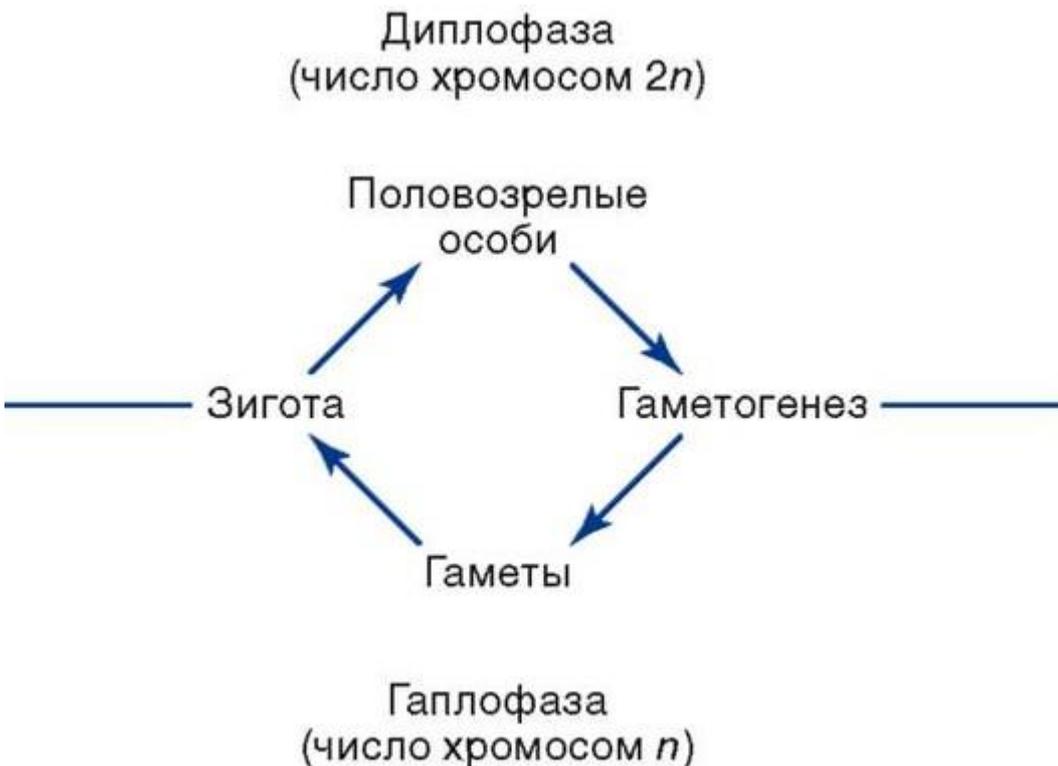


Рис. 4.47. Фазы жизненного цикла многоклеточных животных

Источник KingMed.info

Для видов, размножающихся половым путем, типичен **половой диморфизм** (рис. 4.48), который заключается в наличии различающихся по фенотипу женских и мужских особей или самок и самцов.

Половой диморфизм как биологическое явление проявляется в патологии людей. В истории здравоохранения особенности биологии женщин определили возникновение в свое время отдельной медицинской дисциплины - гинекологии. На наших глазах укрепляются позиции медицинской дисциплины, которая своим возникновением обязана особенностям биологии мужчин, - андрологии. Многие из области интересов гинекологии, с одной стороны, и андрологии, с другой, связано со специфической ролью, которую играют женщины и мужчины в осу-

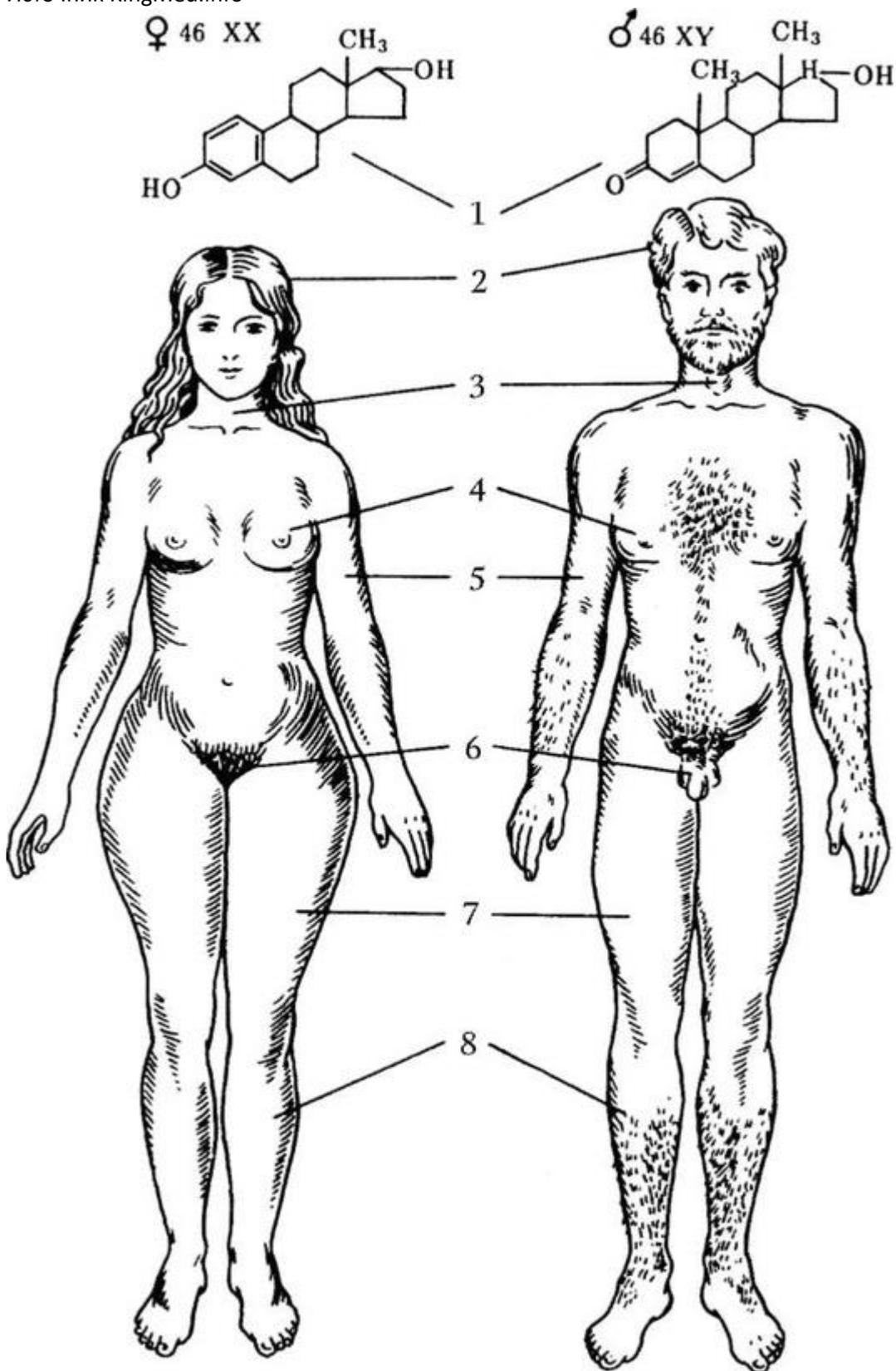


Рис. 4.48. Половой диморфизм у людей. Характерны различия: 1 - по кариотипу и главному половому гормону; 2 - структуре волос и характеру оволосения; 3 - строению гортани; 4 - развитию молочных желез; 5 - развитию мускулатуры; 6 - строению половых органов; 7 - распределению жировой ткани; 8 - показателям роста длинных трубчатых костей. Половой диморфизм проявляется также на уровне гамет (см. рис. 4.47)

ществлении детородной функции. Вместе с тем медицина располагает фактами, свидетельствующими, например, о различиях (при одинаковой дозировке) в терапевтическом эффекте, спектре и выраженности побочных реакций, а также об особенностях фармакодинамики и фармако-кинетики (параметры, характеризующие метаболизм и, следовательно, «судьбу» медицинского препарата в организме больного) ряда лекарственных средств в зависимости от того, идет ли речь о пациенте или о пациентке. Злокачественные новообразования одной органной локализации чаще встречаются у женщин, тогда как другой - у мужчин. При этом речь не идет об органах репродуктивной системы (молочная железа, матка, яичники - у женщин, предстательная железа - у мужчин). Различия в средней продолжительности жизни мужчин и женщин - реальность, хотя конкретные цифры колеблются от популяции к популяции. Так, в США (1979) и Франции (1980) они превышали 8 лет, в Греции (1981) составили 4,5 года, в Болгарии и Японии (1981) были равны 5,5 годам - все в пользу женщин.

Современная живая природа дает примеры различных способов определения пола.

При **прогамном** способе, например, пол организма определяется особенностями структуры яйцеклетки, которая была оплодотворена сперматозоидом. Так, у коловраток крупные яйцеклетки дают самок, более мелкие - самцов. При **эпигамном** способе мужской или женский пол определяется факторами внешней среды, например, температурой в кладке яиц: у многих видов черепах при температуре ниже 27 °С развиваются только самцы, выше 30 °С - только самки, в интервале 27-30 °С - самцы и самки. У большинства видов животных, размножающихся половым путем, в процессе исторического развития закрепились разные варианты «надежного» генотипического способа определения пола. При **эусингамном** варианте (пчелы, муравьи), самцы первично гаплоидны, поскольку они развиваются из неоплодотворенных яйцеклеток, тогда как самки диплоидны. Напомним, что в процессе развития соматические клетки самцов таких животных становятся диплоидными. У плодовых мух наблюдается **«балансовый»** вариант генотипического способа, при котором пол определяется отношением числа хромосом X к числу наборов аутосом (A). Если указанное отношение равно единице ($XX/2A$), развивается самка, при значении отношения 0,5 ($XY/2A$) - самец, особи с кариотипом $XX/3A$ (отношение меньше единицы, но больше 0,5) или $XY/3A$ (отношение меньше 0,5) - интерсексы. Исследования, выполненные также на плодовых мухах, заставляют думать, что генотипический механизм формирования комплекса фенотипических признаков женского или мужского пола у них более сложен. Так, у дрозофил на хромосоме 3 обнаружен локус *tra* или *t* с геном, изменяющим пол организма в сторону мужского вне зависимости от значений отношения числа хромосом X и числа наборов аутосом. Особи как с генотипом $XY/2Att$, так и с генотипом $XX/2Att$ - фенотипически самцы, однако первые плодовицы (образуют сперматозоиды), а вторые стерильны. Можно заключить, что для сперматогенеза хромосома Y необходима.

Предположительно с точки зрения интересов эволюционного процесса оптимален **хромосомный** вариант, получивший повсеместное распространение среди высокоорганизованных многоклеточных животных (амниоты - птицы, млекопитающие, включая человека), однако встречающийся у анамниа (земноводные) и среди членистоногих (некоторые виды клопов). Для этого варианта генотипического способа характерно, что один из полов (гомогаметный) образует одинаковые гаметы, тогда как второй (гетерогаметный) - разные. У млекопитающих гомогаметны женские особи, имеющие в кариотипе пару одинаковых половых хромосом (XX), а гетерогаметны - мужские особи, имеющие в кариотипе пару разных половых хромосом (XY). У земноводных и птиц гомогаметны мужские особи (пара одинаковых половых хромосом - ZZ), тогда как гетерогаметны женские особи (пара разных половых хромосом

Источник KingMed.info

- ZW). Легко видеть, что при таком варианте генотипического способа определения один из полов (гомогаметный) по паре половых хромосом характеризуется как гомозиготный, тогда как второй (гетеро-гаметный) - как гетерозиготный.

Предположительно в генотипическом определении пола у парамеций принимает участие один локус, т. е. задействован моногенный механизм. При этом есть основания думать, что у парамеций особи одного пола по указанному локусу гомозиготны, а другого - гетерозиготны. Хромосомный (или более редкий моногенный, см. пример с парамециями) вариант определения пола оптимален для процесса эволюции потому, что он, благодаря гомогаметности и гетерогаметности полов и отношению разнополых особей в период активного размножения 1:1 (у человека таковым отношение между мужскими и женскими особями становится в юношеском возрасте, хотя среди новорожденных на 100 девочек приходится в среднем 106 мальчиков), обеспечивает:

- максимальную вероятность встречи разнополых особей в целях репродукции;
- наиболее высокий уровень разнообразия генетической информации родителей, привлекаемой для создания генотипов потомков в каждом очередном поколении;
- поддержание оптимальной численности особей в популяциях. Известны виды, у которых гетерогаметный пол представлен особями с парой разных половых хромосом - XY, тогда как особи гомогаметного пола имеют одну половую хромосому - XO. Встречаются также иные варианты. Так, у клопов из рода *Protenor* самки - XX, самцы - XO. Напомним, что среди людей лица с моносомией по паре половых хромосом (XO) характеризуются патологическим фенотипом, в целом сдвинутым в женскую сторону (синдром Шерешевского-Тернера).

Наличие в человеке биологического, социального и духовного начал (см. предисловие) объясняет, почему проблема пола, отнесенная к людям, имеет много аспектов (табл. 4.4).

Таблица 4.4. Пол человека: биосоциальные факторы определения пола у людей - генетика и среда

Мужской пол	Пол	Женский пол
Хромосомы XY	Генотипический (генетический)	Хромосомы XX
Семенники (яички)	Гонадный	Яичники
Сперматозоиды	Гаметный	Яйцеклетки
Андрогены	Гормональный	Эстрогены
Мужской фенотип	Соматический	Женский фенотип
Мужской	Гражданский (по паспорту)	Женский
Мужчина	Пол воспитания	Женщина
	Половая самоидентификация (проблема транссексуальности)	
Типичная мужская или нетипичная	Половая роль (ориентация)	Типичная женская или нетипичная

У млекопитающих, в том числе у человека, эмбриональная закладка половых желез (гонады) в виде парной структуры (половой валик) поначалу не имеет признаков дифференциации по мужскому (семенник) или женскому (яичник) типу, т.е. является индифферентной (бипотенциальной). Направление дифференциации зависит от комбинации пары половых хромосом в зиготе, т.е. от того, была ли оплодотворена яйцеклетка сперматозоидом с хромосомой X или с хромосомой Y. В присутствии в кариотипе зиготы хромосомы Y (комбинация пары половых хромосом XY) развитие происходит по мужскому типу, что связано с расположением на указанной хромосоме гена **SRY** (*Sex determining Region Y, Yp11.31-32*). Названный ген

Источник KingMed.info

контролирует образование транскрипционного фактора, который благодаря сродству к промоторам активирует гены, необходимые для развития семенника. Поэтому ген *SRY* называют также **TDF (Testis Determining Factor)**. У человека экспрессия гена *SRY* (*TDF*) начинается на стадии зиготы. На хромосоме Y расположены также гены **AZF (Azoospermia Factor, Yq11)** и **H-Y** антигена. Первый участвует в регуляции сперматогенеза: его мутации ведут к снижению продукции сперматозоидов вплоть до полного подавления. Фе-нотипически это проявляется в олигоспермии или азооспермии, т. е. в недостаточном количестве или полном отсутствии спермиев в семенной жидкости. Второй обуславливает синтез белков клеточных оболочек. В настоящее время его участие в генетическом контроле развития фенотипических признаков по мужскому типу оспаривается.

В развитии эмбриональной закладки гонад по мужскому типу участвует ряд аутосомных генов. Среди них гены **AMH** или **MIS (Anti-Mullarian Hormone** или **Mullerian Inhibiting Substance, 19p13.2-3)**, **SOX9 (Sox-related HMG-box-containing gene**, расположен на хромосоме 17) и **WT1 (Wilm s Tumore-associated gene 1**, расположен на хромосоме 11). Экспрессия двух последних генов происходит в клетках закладки половых желез на индифферентной стадии. Мыши-мутанты с «выключенным» геном *WT1* нежизнеспособны: у них не развиваются гонады и почки. На хромосоме X в зоне **DSS (Dosage-Sensitive Sex reversal)** расположен ген **DAX1** или **AHC (Adrenal Hypoplasia Congenita)**, который репрессируется (подавляется) в условиях активации гена *SRY*, т. е. в случае начала развития гонад по мужскому типу. При отсутствии активности гена *SRY* ген *DAX1* активно функционирует, что необходимо для развития гонад по женскому типу (яичники). В настоящее время названная функция гена *DAX1* подвергается сомнению. Ген *AMH* ответствен за редукцию мюл-леровых протоков, не нужных для развития мужской репродуктивной системы, так как семявыносящие пути и ряд других структур образуются из вольфовых протоков.

На 6-й неделе внутриутробного развития гонады дифференцированы по полу. Если к названному сроку беременности развитие гонад по мужскому типу не началось, «по умолчанию» развитие комплекса половых признаков сдвигается в направлении женского фенотипа. Описанные события, ведущая роль в которых принадлежит, видимо, ге-нотипическим факторам (наличие в генотипе соответствующих генов и их взаимодействие, особенности генотипической среды или среды 1-го порядка), составляют содержание периода **первичной детерминации пола** развивающегося организма. Главный результат этого этапа состоит в дифференциации первоначально индифферентной эмбриональной закладки половых желез в семенники или яичники.

Начиная с 7-й недели внутриутробного развития, когда гонады приобретают структуру либо семенника, либо яичника, начинается период **вторичной детерминации пола**. В этом периоде главную роль играют гормоны. Так как гормоны являются сигнальными молекулами, клеточные оболочки должны иметь молекулы-рецепторы, специфически узнающие гормон и запускающие соответствующие внутриклеточные сигнальные пути. Образование гормонов и рецепторов находится под генетическим контролем.

Главный мужской половой или андрогенный гормон тестостерон образуется в семенниках клетками Лейдига. Для развития полноценного фенотипического комплекса мужского типа необходима также активность гена *AMH*, контролирующего продукцию андрогенного гормона, подавляющего развитие мюллеровых протоков. Активация названного гена обусловлена продуктом активности гена *SRY*. Под влиянием тестостерона из вольфовых протоков образуются мужские внутренние половые органы, такие, как семявыносящие каналы, индуцируется развитие семенных пузырьков и придатка яичка (эпидидимис), а также формирование на основе

Источник KingMed.info

мочеполового синуса таких наружных половых органов, как простата, половой член, мошонка. Действие тестостерона требует наличия в клеточных оболочках белка-рецептора, образование которого контролирует ген *AR* (*Xq11*). Оба названных выше андрогенных гормона необходимы для развития по мужскому типу (маскулинизирующее действие) экстрагенитальных органов и тканей-мишеней, что обуславливает половой диморфизм центральной нервной системы, мускулатуры, пропорций и размеров тела, внутренних органов, метаболизма и т.д. При нарушении образования в организме андрогенных гормонов или рецепторов к ним наблюдаются отклонения в развитии фенотипическо-го комплекса мужского пола (сдвиг в сторону фенотипического комплекса женского пола) разной степени - от гипоспадии (относительно низкое расположение мочеиспускательного канала) легкой степени и/или крипторхизма (неопущение яичка в мошонку) до оформления выраженного женского фенотипа (синдром тестикулярной феминизации или Морриса). Причиной этих отклонений могут быть как мутации соответствующих генов или нарушение межгенных взаимодействий (генотипическая среда или среда 1-го порядка), в том числе в формате явления генокопирования, так и изменения в ходе морфогенетических процессов в связи с особенностями среды 2а (внутренняя среда развивающегося организма) и 2б (внутренняя среда организма женщины, вынашивающей ребенка), в том числе спровоцированными условиями внешней среды или среды 3-го порядка - явление фенокопирования. В период вторичной детерминации пола по мужскому варианту определенную роль играют и женские половые гормоны - эстрогены. Так, они необходимы для созревания костной ткани, а также обеспечивают некоторые качественные характеристики сперматозоидов.

На настоящий момент можно думать, что количество генов, вовлеченных в развитие и обеспечение функций яичек и простаты, составляет не менее 1200, яичника - 500, матки - 1800. В таких условиях трудно говорить о моногенном принципе генотипического обеспечения развития и функционирования фенотипического комплекса признаков пола. Именно поэтому в настоящее время принцип генетической регуляции половой дифференцировки у человека нередко определяют как сетевой, подразумевая под этим, что действие многих генов-участников взаимосвязано и взаимообусловлено.

Наряду с фенотипическими признаками, связанными с мужским или женским полом непосредственно, выделяют также признаки, зависящие от пола и ограничиваемые полом. В данном случае речь может идти, например, о генах раннего облысения, которые у мужчин ведут себя как доминантные, а у женщин как рецессивные. Известно, что не только у коров, но и у быков (нельзя исключить, что и у мужчин) есть гены, контролирующие возможность продукции молока, причем определенной жирности. У быков эти гены, однако, не экспрессируются.

Нельзя также забывать о том, что существует X- и Y-сцепленное наследование признаков.

Вопросы для самоконтроля

1. В чем состоят свойства наследственности и изменчивости на разных уровнях организации жизни?
2. Перечислите формы изменчивости и дайте их краткую характеристику?
3. Является ли ген структурной или функциональной единицей генетического материала? Каковы свойства гена?
4. Что такое аллели генов, и каков механизм их возникновения?

Источник KingMed.info

5. Перечислите уровни организации генетического материала. В чем биологическое значение каждого уровня?
6. Что такое «кариотип», и чем он характеризуется?
7. Какие типы наследования существуют? Какие виды взаимодействия генов реализуются при каждом типе наследования?
8. Что такое «фенотип»? Какие наследственные и средовые факторы принимают участие в его формировании?
9. Что такое «пол»? Каковы уровни его формирования у человека?
10. Какие могут быть нарушения формирования пола у человека?

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И КЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ОБЕСПЕЧЕНИЯ СВОЙСТВ НАСЛЕДСТВЕННОСТИ И ИЗМЕНЧИВОСТИ У ЛЮДЕЙ КАК ПРОЯВЛЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОГО НАСЛЕДСТВА ЧЕЛОВЕКА. ВВЕДЕНИЕ В ГЕНЕТИКУ ЧЕЛОВЕКА

Человек как отдельный вид представляет собой продукт биологической эволюции. Возникновение вида *Homo sapiens*, его расселение по планете и длительное (люди современного типа появились порядка 40 тыс. лет назад; архаичные формы человека, к которым некоторые антропологи причисляют неандертальцев - *Homo neandertalensis*, возникли порядка 100-300 тыс. лет назад или раньше) существование на Земле обусловлены в том числе наличием таких универсальных свойств жизни, как наследственность и биологическая изменчивость. Важнейшее доказательство эволюционного родства человека с другими организмами из мира земной жизни - идентичность генетического материала (ДНК), принципов его надмолекулярной (двойная спираль) и морфологической (хромосомы) организации, способов записи биоинформации (биологический код - нуклеотидный и аминокислотный) и ее использования (матричный синтез: репликация ДНК, транскрипция информационных или матричных РНК, трансляция полипептидов). Имея в виду высокую степень аргументированности гипотезы о происхождении человека и современных человекообразных обезьян от общего предка, не вызывает удивления большое (на 99%) сходство, наблюдаемое в спектре образуемых белков, а также в нуклеотидных последовательностях ДНК у человека и, в частности, у шимпанзе.

Кариотипы людей и шимпанзе различаются по числу пар хромосом - 23 и 24 соответственно. Вместе с тем характер исчерченности хромосом при их избирательном окрашивании у названных видов практически идентичен. Анализ результатов такого окрашивания дает повод к заключению, что крупная хромосома 2 человека - это слившиеся две мелкие хромосомы (12 и 13) шимпанзе.

Гены человека мутируют с частотой, соизмеримой с таковой у других организмов от прокариот до высших позвоночных животных - в среднем от 10^{-5} до 10^{-7} мутаций на 1 locus (сайт ДНК) или гамету за поколение (но: см. п. 4.3.1.3).

Соматические клетки, строящие тело и органы людей, по содержанию ДНК и по количеству наборов хромосом диплоидны, тогда как гаметы гаплоидны. Диплоидность соматических клеток в ряду поколений и гаплоидность гамет обеспечиваются тем, что у всех животных в основе образования новых клеток, исключая половые, лежит процесс митоза, а в гаметогенезе задействован процесс мейоза с включенными в него кроссинговером и рекомбинацией генетического материала в профазе и независимым расхождением негомологичных хромосом в анафазе первого деления. Напомним, что восстановление диплоидного количества ДНК ($2c$) и числа хромосом ($2n$) в клетках в индивидуальном развитии и у человека, и у представителей всех других видов животных, размножающихся половым путем, происходит в момент и вследствие оплодотворения гаплоидной ($c; n$) яйцеклетки гаплоидным ($c; n$) сперматозоидом. Напомним, что закономерная смена диплоидной и гаплоидной фаз жизненного цикла организмов, которым свойственно половое размножение, в сочетании со свойством аллельного состояния генов и правилом чистоты гамет раскрывает природу механизмов независимого наследования признаков, открытого Г. Менделем.

Таким образом, молекулярно-генетические и клеточные основы явлений наследственности и изменчивости у человека и представителей других видов животных полностью совпадают.

Следует, однако, помнить, что в силу социальности человек создает в процессе своей деятельности новую среду жизни (биосфера трансформируется в социотехносферу, ноосферу). С одной стороны, составляющие этой среды (отапливаемые и/или кондиционируемые жилища и производственные помещения, одежда и т.д.) избавляют организм человека от прямого действия на него факторов природной среды, среди которых немало относится к категории экстремальных, вредных для здоровья. С другой стороны, далеко не всегда параметры этой среды оптимальны для существования людей. В частности, растет концентрация и расширяется спектр мутагенов, что не может не сказаться на интенсивности мутационного процесса, происходящего в генетическом материале (ДНК) как человека, так и организмов других видов. Специального внимания заслуживает факт снижения давления на гено(аллело)фонды популяций людей естественного отбора, активными факторами которого на протяжении большей части истории человечества служили особо опасные инфекционные и паразитарные болезни, туберкулез. Это приводит к сохранению в названных гено(аллело)фондах мутантных аллелей с неблагоприятным фенотипическим эффектом, что благодаря формированию так называемого генетического груза снижает приспособительный потенциал популяций и жизнеспособность отдельных индивидуумов. Вытекающая из этих обстоятельств опасность ухудшения здоровья и качества жизни осознается людьми, которые пытаются найти эффективные меры предупреждения неблагоприятных последствий.

5.1. наследственность и биологическая изменчивость у человека

Благодаря значительному объему (3,2 млрд п.н.) человеческого генома и сниженному в силу социальности людей давлению естественного отбора, утратившего относительно популяций людей функцию видообразования, в гено(аллело)фонде человечества за тысячелетия его существования вследствие постоянно происходящего мутационного процесса накоплено большое количество разнообразных (мутантных) аллелей многих генов. Это стало причиной формирования у людей разных вариантов фенотипических признаков и свойств на структурном, функциональном, биохимическом (метаболическом) и поведенческом уровне. Действительно, основу индивидуальных различий по многим белкам составляют изменения соответствующих генов. Анализ аминокислотного состава вариантов белков человеческого организма, интенсивности их синтеза и функциональной активности дает ценные сведения об организации и экспрессии (реализации биоинформации) генетического материала людей.

Наглядным примером действия универсальных молекулярно-генетических и клеточных механизмов наследственности и изменчивости у человека может служить гемоглобин - специфический белок эритроцитов, играющий ключевую роль в транспорте O_2 и легко выделяемый для проведения исследований. Масштабы изменчивости гемоглобина поражают. На настоящее время известно около 400 вариантов белка. Одни из этих вариантов закономерно образуются в организме на определенных стадиях онтогенеза, являясь необходимой предпосылкой здоровья, тогда как другие связаны с развитием определенных патологических состояний. При этом в ряде случаев известен тот позитивный момент, который «оплачивается» неблагоприятными последствиями сохранения «проблемных» аллелей в гено(аллело)фондах некоторых популяций людей (серповид-ноклеточная анемия и тропическая малярия, см. здесь же, ниже).

Функционально полноценный гемоглобин представляет собой гете-робелковый комплекс - тетрамер. У взрослого человека он представлен четырьмя полипептидными глобиновыми молекулами (два α и два β), соединенными с железосодержащим элементом гемом. Оба полипептида существуют в организме в виде нескольких вариантов, образование которых контролируют разные, но близкие нуклеотидные последовательности ДНК. Так, полипептиды α -

Источник KingMed.info

(141 аминокислотный остаток) и β - (146 аминокислотных остатков) глобинов различаются по десяти аминокислотным остаткам. Гены, контролирующие синтез обоих полипептидов, характеризуются кластерной организацией. Кластер α -глобиновых генов располагается на коротком плече хромосомы 16, а β -глобиновых - на коротком плече хромосомы 11. Два варианта полипептида β фетального гемоглобина (гемоглобин плода, *HbF*) γG и γA различаются одним аминокислотным остатком - в 136-м положении находится либо глицин, либо аланин. Различные члены кластеров α - и β -генов за исключением так называемых псевдогенов (нуклеотидные последовательности, которые вследствие накопления в них точечных мутаций, не подхваченных естественным отбором, утратили биоинформационную функцию и не экспрессируются; псевдогены имеются в обоих кластерах), будучи необходимыми для нормального онтогенеза и жизнедеятельности, транскрибируются и транслируются в клетках различного типа, находящихся в разных органах (стенка желточного мешка, печень, красный костный мозг), в разные периоды индивидуального развития, образуя гемоглобины эмбриона, плода и родившегося человека (см. также п. 4.3.3.2).

Из многочисленных мутаций генов глобинов большинство редки (обычно не более 1% мутантных аллелей в аллелофонде популяции) и лишь немногие из них встречаются, особенно в некоторых человеческих популяциях, относительно часто, например *HbS* (Средиземноморье и жаркий влажный пояс Африки, доля гетерозигот *HbA/HbS* - 10-30%), *HbC* (Западная Африка, порядка 10% гетерозигот *HbA/HbC*), *HbD* (северо-запад полуострова Индостан, до 5% гетерозигот *HbA/HbD*), *HbE* (Таиланд, не менее 10% гетерозигот *HbA/HbE*). Большая часть вариантов гемоглобина различается единичными аминокислотными заменами, причиной которых являются генные мутации, связанные с заменой нуклеотидов (изменением азотистых оснований) в нуклеотидных последовательностях членов α - или β -глобиновых генных семейств.

Замены аминокислот, нарушающие спиральную структуру полипептидов, нередко фенотипически проявляются в неустойчивости гемоглобина-тетрамера. Замена аминокислот в участках, которыми α - и β -полипептиды контактируют друг с другом, влияют на сродство гемоглобина к кислороду. Нарушения функций гемоглобина, обусловленные отмеченными изменениями структуры α - и β -глобиновых генов, ведут к заболеваниям, которые принято делить на четыре группы.

- **Гемолитические анемии.** Проявляются в распаде эритроцитов в связи с неустойчивостью гемоглобина. Известно порядка 100 вариантов нестабильных гемоглобинов с мутациями в гене β -глобина.
- **Метгемоглобинемии.** Обусловлены ускоренным окислением двухвалентного железа до трехвалентного с образованием метгемоглобина (гемоглобина М). Известны пять точечных мутаций генов α - и β -глобинов, фенотипически проявляющиеся в развитии указанного патологического состояния.
- **Эритроцитоз.** Заключается в образовании большего, чем обычно, количества эритроцитов, что обусловлено повышенным сродством гемоглобина к кислороду, который с трудом высвобождается в тканях. Известно порядка тридцати таких мутаций.
- **Серповидноклеточная анемия.** К указанному патологическому состоянию чаще всего ведет замена в эритроцитах *HbA* на *HbS*. В условиях гипоксии *HbS* склонен к кристаллизации, что приводит к изменению формы эритроцитов на серповидную, а фенотипически проявляется многообразием симптомов (см. рис. 4.3), важнейшее место среди которых занимает анемия.

Заболевания крови первых трех групп наследуются по доминантному типу, в связи с чем отклонения в здоровье наблюдаются не только у гомозигот, но и у гетерозигот по мутантному аллелю. В обычных условиях наследование серповидноклеточной анемии происходит по рецессивному типу. В условиях выраженной гипоксии, например, при нахождении человека на высоте свыше 3000 м над уровнем моря анемия развивается у гетерозигот *HbA/HbS* (кодминирование). Накопление в гено(аллело) фондах некоторых популяций людей аллелей серповидноклеточности эритроцитов - *HbS*, *HbC*, *HbD*, *HbE* (см. здесь же, выше) связано с тем, что гетерозиготы по названным аллелям обеспечивают выживание соответствующих популяций в регионах Земли, где распространены возбудители тропической малярии и ряда других тяжелых паразитарных болезней.

Описанные выше мутантные формы гемоглобина, как уже отмечалось, возникают вследствие изменений структуры генов по типу замены азотистых оснований (нуклеотидов). Мутации иного характера приводят к появлению аллелей глобинов, обуславливающих другие виды патологии красной крови. В частности, нарушение процесса рекомбинации между аллельными генами в виде неравного кроссинговера дает изменение числа нуклеотидов в них, что приводит к сдвигу «рамки считывания». Нередким результатом таких мутаций бывает подавление образования соответствующего полипептида гемоглобина, приводящее к развитию патологических состояний, известных как **талассемии**. Так, делеция одного нуклеотида в 139-м триплете гена α -глобина (всего 141 триплет) вызывает сдвиг «рамки считывания» и, как следствие, «прочтение» 142-го кодона и далее, в результате чего мутантный α -полипептид становится длиннее на 5 аминокислотных остатков. Присутствие таких α -полипептидов характеризует один из редких вариантов - гемоглобин *Vayne*. Если делеция случается ближе к 5'-концу генов α -, β - или γ -глобинов, синтез соответствующего полипептида может блокироваться, вследствие чего развиваются различные клинические формы α -, β - и γ -талассемии.

Некоторые мутантные варианты гемоглобинов образуются вследствие дупликаций определенных участков глобиновых генов. Гемоглобин *Grandy*, например, отличается дупликацией аминокислотных остатков, занимающих в α -глобине 116-118 положение. β -Глобин мутантного гемоглобина *Cranston* имеет длину не 146, а 158 аминокислотных остатков, что является результатом дупликации нуклеотидной последовательности АГ после 144-го триплета, сдвига «рамки считывания» и, как следствие, «прочтения» кодона-терминатора. Различные по своему конкретному выражению (нуклеотидные замены, делеции, дупликации) изменения структуры глобиновых генов приводят к аминокислотным заменам в соответствующих полипептидах, к укорочению или удлинению последних или же к прекращению их синтеза. Они могут быть причиной развития заболеваний, объединяемых в семейство **гемоглобинопатии**.

Из сказанного по поводу гемоглобина следует, что образование те-трагетеробелкового комплекса, определяющего выполнение эритроцитами их главной функции, находится под генетическим контролем. При этом формирование тетрамера требует скоординированной экспрессии двух неаллельных генов - α - и β -глобиновых. Генетический контроль распространяется также на небелковый элемент гемоглобина - гем, представляющий собой комплекс порфиринового кольца и двухвалентного железа. В первую очередь речь здесь идет о генах, контролирующих синтез гема, в частности, в эритроцитах. Мутации этих генов (локусы *10q25.2-q26.3*, *18q21.3*) фенотипически проявляются в различных клинических формах **эритропоэтической порфирии** (симптомы - фотосенсибилизация, светочувствительный дерматит, желтуха, гепато-спленомегалия, покраснение зубов, полиневропатии, задержка физического и психического развития).

Источник KingMed.info

Среди генных наследственных болезней человека **фермент(энзимо) патиям**, развивающимся вследствие мутаций генов, контролирующих образование белков-ферментов, принадлежит заметное место. Так, нарушение структуры соответствующего гена приводит к функциональной недостаточности организма по ферменту фенилаланингидроксилазы (см. также п. 5.2.2.8). В такой ситуации аминокислота фенилаланин не превращается в аминокислоту тирозин (рис. 5.1) и накапливается в крови (до 0,5-0,6 г/л вместо обычных 0,03-0,04 г/л). Избыток фенилаланина и некоторых продуктов его обмена оказывает токсическое действие на мозг ребенка, что приводит к задержке умственного развития. Одновременно нарушается образование пигмента меланина (слабая пигментация радужной оболочки глаз, волос). Повышенная концентрация фенилаланина, подавляя активность некоторых ферментных систем организма, может привести к развитию судорожного синдрома.

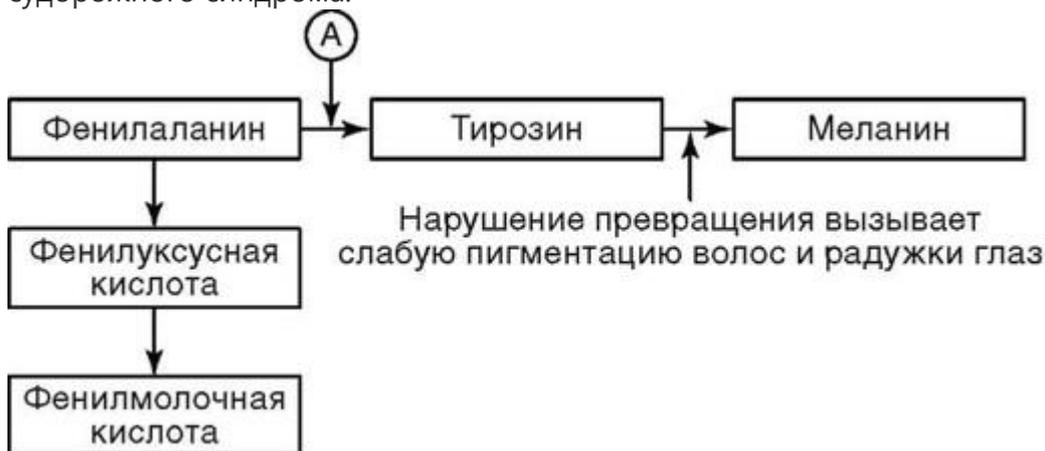


Рис. 5.1. Сокращенная схема обмена аминокислоты фенилаланина: А - фермент фенилаланингидроксилаза, наследственный дефект которого приводит к развитию фенилкетонурии

Описанный симптомокомплекс характеризует наследственное заболевание **фенилкетонурию**.

Генотипические изменения (мутации генов, контролирующих распад определенных веществ) составляют важное патогенетическое звено некоторых **болезней накопления**, например **лизосомных** (различные формы мукополисахаридозов - синдром Гурлера, синдром Хантера; сфинголипидозов - болезнь Нимана-Пика, болезнь Тея-Сакса).

Наследственные дефекты в виде генных мутаций - причина многих **болезней обмена веществ**, в зависимости от специфических фенотипических проявлений выделяют болезни **углеводного** (галактозе-мия, непереносимость фруктозы, дисахаридов), **жирового** (семейная гиперхолестеринемия, болезнь острова Танжер) метаболизма, обмена **транспортных белков** (цистинурия, цистиноз), **аминокислот** (фенилкетонурия, см. здесь же, выше) и **органических кислот** (метилмалоновая ацидемия, пропионовая ацидемия), **пуринов** и **пиримидинов** (болезнь Леша-Найана, недостаточность пуриноклеозидфосфорил-азы, наследственная оротовая ацидурия), **металлов** (меди - болезнь Вильсона-Коновалова, цинка - наследственный энтеропатический акродерматит).

5.2. генетика человека как научно-практическая дисциплина

5.2.1. ЧЕЛОВЕК КАК ОБЪЕКТ ГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

Основные закономерности наследования и изменчивости признаков живых форм и вытекающие из этих закономерностей генетические законы были установлены классической (домолекулярной) генетикой благодаря применению **гибридологического метода (метод**

скрещивания) генетического анализа (см. п. 4.3.5.3-в), основоположником которого является Г. Мендель. И в настоящее время в целях генетического анализа широко используют такие объекты классической генетики, как растения, одноклеточные эукариоты, дрожжи, среди многоклеточных животных - плодовая муха дрозофила, круглый червь *Caenorhabditis elegans*, мышь и другие виды, сравнительно легко скрещивающиеся в лабораторных условиях. Общие характеристики этих видов - достаточно высокая плодовитость (возможность использовать статистический подход при оценке потомства), непродолжительный жизненный цикл и, следовательно, быстрая смена поколений (открывает перед генетиками перспективу в короткие отрезки времени наблюдать наследование и изменчивость признаков в ряду многих поколений), небольшое число групп сцепления (хромосом), умеренное влияние на состояние фенотипических признаков факторов среды (параметры нормы реакции - см. п. 4.1.1). Молекулярная генетика расширила список «привлекательных» объектов генетического анализа за счет микроорганизмов, вирусов и фагов, привлечение которых позволило получить информацию о химической природе вещества наследственности (ДНК), о структуре гена как функциональной генетической единице, о некоторых механизмах регуляции активности этой единицы.

С точки зрения приведенных выше характеристик, делающих объект удобным для проведения генетических исследований с использованием гибридологического метода генетического анализа, человек как вид обладает существенными ограничениями. Во-первых, среди людей не могут практиковаться заранее спланированные в интересах генетика-исследователя направленные скрещивания (браки). Во-вторых, сравнительно низкая плодовитость затрудняет эффективное применение статистического подхода. В-третьих, медленная (продолжительность существования поколения людей - 25 лет) смена поколений даже при относительно большой длительности жизни не позволяет генетику-исследователю наблюдать закономерности наследования и изменчивости признаков у представителей более чем двух-трех поколений. В-четвертых, генетический анализ людей затрудняет наличие большого числа групп сцепления (23 хромосомы у женщин и 24 хромосомы у мужчин). В-пятых, люди характеризуются выраженным фенотипическим полиморфизмом, что нередко обусловлено действием факторов среды.

Важная позитивная особенность человека, рассматриваемого в качестве объекта генетического анализа, - высокий в сравнении с большинством других живых форм (в частности, многоклеточных эукариот) уровень изученности его фенотипа - результат работы морфологов, физиологов, биохимиков, иммунологов, этологов и психологов, социологов, клиницистов и др. Невозможность использовать в интересах генетического анализа гибридологический метод стимулировала поиск и применение других, нередко специфических методов (например, близнецовый метод), дающих сведения о закономерностях наследования и изменчивости признаков у человека.

Эффективность фундаментальных и биомедицинских прикладных, прежде всего диагностических и скрининговых (от англ. *screening* - тестирование большого числа людей на наличие, например, болезни, «проблемных» аллелей и т.п.), исследований в области антропо-генетики и медицинской генетики существенно повысилась в связи с реализацией проекта «геном человека», а также разработкой, совершенствованием и применением в практическом здравоохранении новейших **молекулярно-биологических** и **молекулярно-генетических геномных технологий**.

5.2.2. МЕТОДЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ГЕНЕТИКЕ ЧЕЛОВЕКА

Потребность в информативных методах генетического анализа людей вытекает в немалой степени из интересов медицинской и клинической генетики, а также здравоохранения в целом.

Этим объясняется устойчивый интерес к соответствующим разработкам, выполняемым в рамках биомедицинского направления современной науки о жизни (см. предисловие). Некоторые особенности разработок такого рода диктует специфика человека как объекта генетического анализа (см. п. 5.2.1). Свой отпечаток накладывают типичные для настоящего времени смещение приоритетов в область молекулярной и клеточной биологии, биоинформатики, а также повышенный интерес к нанобиомедицинским профилактически-превентивным, диагностическим и терапевтическим технологиям. Это порождает проблему разумного сочетания методологии и наработок классической домолекулярной («обратной») и современной молекулярной («прямой») генетики. От оптимального решения названной проблемы уже сегодня зависит эффективность функционирования службы МГК.

С практической медицинской точки зрения важно возможно более раннее в онтогенезе обнаружение генетических дефектов, что стимулирует создание методов **пренатальной** и **предимплантационной** диагностики генетической конституции зачатого и начавшего свое индивидуальное развитие человека. Успешное развитие этой группы методов в немалой степени зависит от возможности получить биологический материал, необходимый для проведения современных диагностических молекулярно-биологических и клеточно-биологических медико-генетических исследований.

Для организации превентивных мер, направленных на профилактику рождения генотипически «проблемного» потомства и распространения мультифакторной патологии, а также для оценки ожидаемой материально-финансовой и кадровой нагрузки на здравоохранение отдельных регионов и государства в исторической перспективе (в том числе ближайшей), необходимы популяционно-генетические скрининговые исследования, дающие информацию об особенностях гено(аллело) фондов групп людей (популяций, этнических, производственно-профессиональных, обитающих в определенных, в частности экстремальных, климатогеографических условиях). На уровне семей и людей активного детородного возраста, предполагающих вступить в брак, решение такого рода задач стоит в связи с получением информации о генетической конституции конкретных лиц. Законодательно предписываемое составление индивидуальных геномно-протеомных паспортов (портретов), о необходимости которого много говорится, способствовало бы радикальному решению соответствующих задач. В любом случае в арсенале антропогенетиков должны быть методы генетического анализа, делающие возможными как персонифицированные, так и популяционно-групповые исследования.

Один из подходов к решению названной задачи состоит в совершенствовании молекулярно-биологических геномных технологий биомедицинского диагностического и/или скринингового исследования образцов биоматериала, основанных на использовании панелей **(микро) чипов** (англ. *(micro)chip technology* - предположительно от англ. *chip* - фишка, небольших размеров кусочек пластика, используемый для обозначения определенной суммы денег в некоторых азартных играх). В англоязычной научной литературе используется также термин *(micro)array* (предположительно от франц. *arrai* - набор объектов, расположенных в правильном порядке). В исходном биомедицинском понимании (микро)чипы - это серия коротких нуклеотидных последовательностей ДНК, отличающихся друг от друга по составу, которые зафиксированы в строго определенном порядке на твердой подложке (стекло, пластик). На 1 см² поверхности удастся разместить порядка 10 тыс. последовательностей. Такие панели путем проведения процедуры молекулярной гибридизации с ДНК-зондами (см. п. 5.2.2.3-а) или других приемов используются для изучения феномена группового (частота присутствия конкретных аллелей или мутаций в гено(аллело) фондах популяций, этносов и т.д.) и

Источник KingMed.info

индивидуального (идентификация генных мутаций с целью уточнения диагноза генетической патологии или обнаружения факта гетерозиготного носительства неблагоприятного по фенотипическому эффекту аллеля, детекция кандидатного гена или генетического маркера предрасположенности к определенному мультифакторному заболеванию) наследственного полиморфизма. Биоинформационные технологии на основе ДНК-чипов, биоэкспрессионные технологии на основе РНК-чипов или белковых чипов, допускающие обработку результатов в автоматическом режиме, существенно повышают производительность и информативность молекулярно-биологических диагностических и скрининговых исследований.

Необходимой предпосылкой использования методов ДНК-диагностики (см. п. 5.2.2.3-б), в том числе в формате *(micro)chip* или *(micro) array technologies*, является идентификация возможно большего количества генов и их аллелей, а также картирование генов и генетических маркеров на хромосомах.

По моральным и этическим соображениям эксперименты над людьми недопустимы. Благодаря действию в природе **закона гомологичных рядов генотипической изменчивости** (Н.И. Вавилов) есть животные, несущие те же мутации, что и люди, страдающие определенными наследственными, в частности моногенными, заболеваниями. К примеру, пациенты, страдающие прогрессирующей мышечной дистрофией Дюшена, и мыши линии *mdx* имеют мутацию в 23-м экзоне гена, который контролирует и у человека, и у мыши образование важного с функциональной точки зрения белка скелетной мускулатуры и сердечной мышцы - дистрофина (у человека ген расположен на коротком плече хромосомы X - *Xp21.2*). Таким образом, закон гомологичных рядов, работающий в живой природе планеты, способствует решению проблемы биологических (генетических) моделей ряда патологических состояний людей. На таких моделях изучаются патогенетические механизмы соответствующих заболеваний, проводятся испытания лекарственных средств.

К методам генетического анализа, применяемым для изучения закономерностей наследования и изменчивости признаков у людей (в том числе патологических), появившимся во времена домолекулярной генетики, относятся генеалогический, близнецовый, цитогенетический, биохимический, популяционно-статистический, генетики соматических клеток и ряд других. Благодаря прогрессу науки некоторые из названных методов были модифицированы (см. п. 5.2.2.3-а), тогда как возможности других были существенно расширены. Появились и принципиально новые методы генетического анализа.

5.2.2.1. Генеалогический метод (метод родословных) генетического анализа человека

В основе этого метода лежат составление и анализ родословных. Его, в сочетании с методом скрещивания, основанном на целенаправленном подборе родительских пар, применяют с древних времен и до наших дней в коневодстве (см. рис. 1.2), селекции пород крупного рогатого скота и свиней, при получении чистопородных собак, выведении новых пород пушных животных. Родословные (генеалогические древа) составлялись на протяжении многих столетий в отношении членов царствующих семейств и знати в странах Европы (см. рис. 5.9) и Азии, в Древнем Египте.

В антропогенетике **генеалогический метод** стали активно использовать с начала XX в., когда выяснилось, что анализ родословных, в которых прослеживается передача в ряду поколений конкретного признака, например патологического, может заменить собой практически неприменимый в отношении людей гибридологический метод.

При составлении родословной исходным является человек - **пробанд**, родословную которого изучают. Обычно это либо больной, либо носитель определенного признака, характер наследования которого предполагается исследовать. Результаты генеалогического анализа оформляют в виде таблиц с использованием унифицированных обозначений, предложенных Г. Юстом в 1931 г. (рис. 5.2). В этих таблицах последовательные поколения обозначают римскими цифрами, а конкретных лиц в каждом поколении - арабскими.

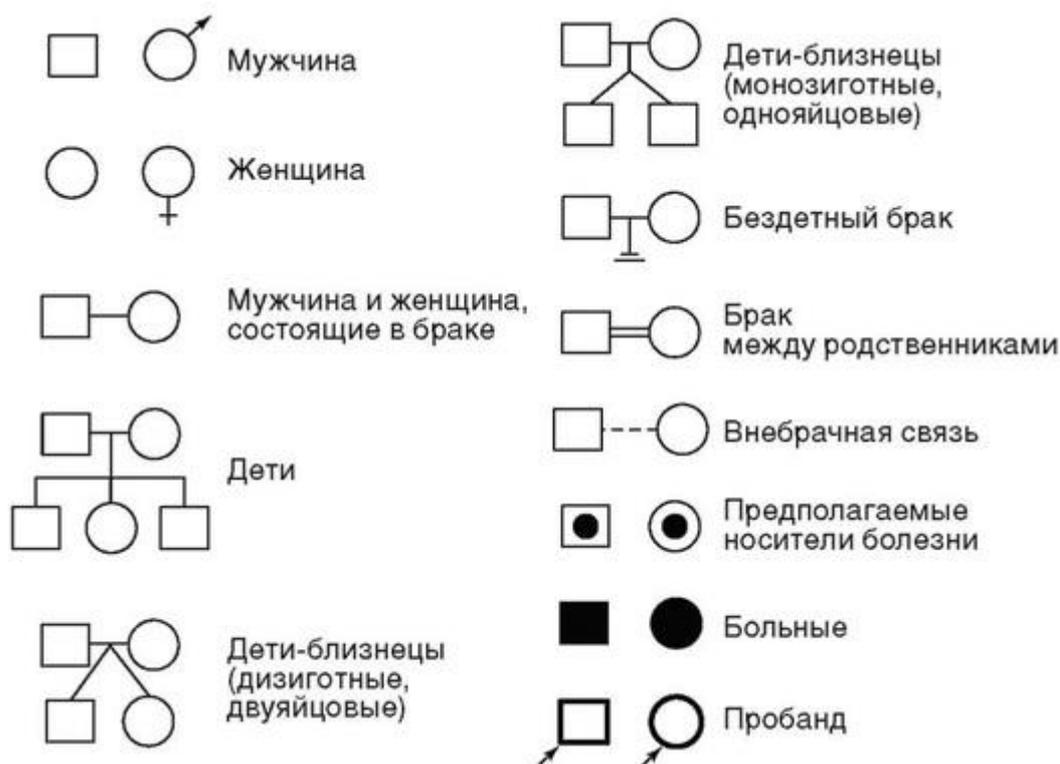


Рис. 5.2. Условные обозначения, используемые при составлении родословных

С помощью генеалогического метода устанавливается наследственная обусловленность изучаемого признака, а также тип его наследования (аутосомно-доминантный и т.д., см. здесь же, ниже). При анализе родословных, составленных по нескольким признакам одновременно, может быть выявлен сцепленный характер их наследования, что используют для составления генетических карт хромосом человека. Этот метод дает возможность изучать интенсивность мутационного процесса, оценить экспрессивность и пенетрантность аллеля (признака). Его широко используют в практике МГК в решении таких задач, как планирование семьи и прогноз генетического здоровья потомства.

Определенность медико-генетического заключения на основании анализа родословных снижается в малодетных семьях, а также в связи с явлением фенкопирования (см. п. 4.3.1.1), при наличии в анамнезе матери контактов с вредными агентами (профессиональные вредности на рабочем месте, лучевые диагностические и/или терапевтические манипуляции), фактов приема определенных лекарственных препаратов.

5.2.2.1-а. Родословные при аутосомно-доминантном типе наследования

Для аутосомного типа наследования (ген, определяющий развитие признака, расположен на аутосоме) в целом характерна равная встречаемость признака среди мужчин и женщин. Это обуславливается наличием в генотипе человека вне зависимости от пола двух

Источник KingMed.info

аллелей генов, локализованных в аутосомах. Напомним, что один из пары аллелей потомок получает через сперматозоид отца, другой - через яйцеклетку матери, а состояние соответствующего фенотипического признака у потомка зависит от характера взаимодействия аллелей гена, т.е. от того, является ли индивид доминантной гомозиготой, рецессивной гомозиготой или гетерозиготой (см. п. 4.3.4).

При доминировании признака у детей, рожденных родительской парой, в которой хотя бы один из родителей является его носителем, признак проявляется с большей или меньшей вероятностью в зависимости от генетической конституции родителей (рис. 5.3).

Если предмет генетического анализа путем составления родословной - доминантный признак, не оказывающий влияния на жизнеспособность организма, то его носителями среди детей будут и гомозиготы, и гетерозиготы. В случае аутосомно-доминантного наследования патологического признака (фактически генетического заболевания) дети, гомозиготные по соответствующему аллелю, нередко нежизнеспособны, и, следовательно, живые носители анализируемого признака по их генетической конституции являются гетерозиготами.

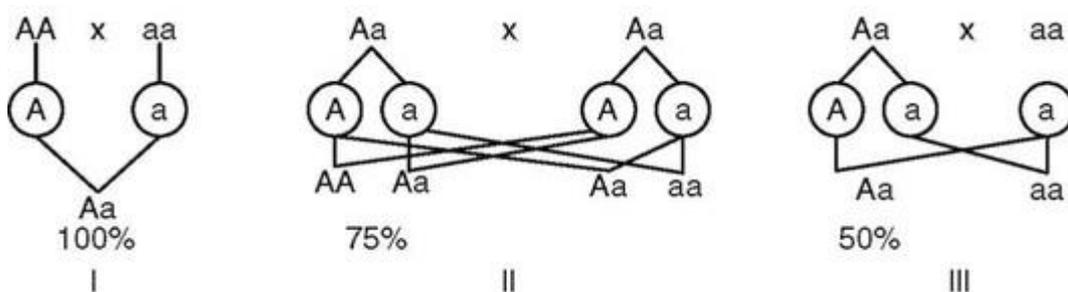


Рис. 5.3. Вероятность появления ребенка с аутосомным доминантным фенотипическим признаком при различной генетической конституции родителей (I-III)

Таким образом, при аутосомно-доминантном типе наследования признак обнаруживается в равной мере среди мужчин и женщин и при достаточном числе потомков обнаруживается в каждом поколении.

При анализе родословных следует помнить о возможности неполной пенетрантности и варьирующей экспрессивности доминантного аллеля (см. п. 4.3.1.1). Известно также, что некоторые генные болезни дают клинические проявления не с рождения, а лишь по достижении определенного возраста. Так, тяжелое нейродегенеративное заболевание хорей Гентингтона (мутантный ген располагается на коротком плече хромосомы 4 - *4p16.3*, содержит 67 экзонов, контролирует синтез белка «гентингтин» с неустановленными окончательно функциями; мутация состоит в увеличении в первом экзоне числа повторов ЦАГ до 36-180 при нормальном их количестве 6-32) диагностируется клинически обычно у лиц не моложе 35-40 лет. В связи с отмеченным, при прогнозировании по данным анализа родословных возможности появления у родительской пары детей с указанным заболеванием уже родившиеся братья и сестры, не достигшие «критического» возраста, в расчет не принимаются. Так как мутация, приводящая к развитию хорей Ген-тингтона, заключается в экспансии до критических цифр числа тринуклеотидных повторов, для заболевания типично явление антиципации, т.е. утяжеление клинических проявлений и более раннее начало заболевания из поколения в поколение в рамках одной родословной (см. п. 4.3.1.3).

Первое описание и анализ родословной при аутосомно-доминантном типе наследования патологического фенотипа (брахидактилия -

Источник KingMed.info

рис. 5.4), дано в 1905 г. На рисунке 5.5 представлена родословная при аутосомно-доминантном типе наследования патологического фенотипа (ретинобластома) в условиях неполной пенетрантности.



Рис. 5.4. Родословная (а) при аутосомно-доминантном типе наследования (брахидактилия - б)

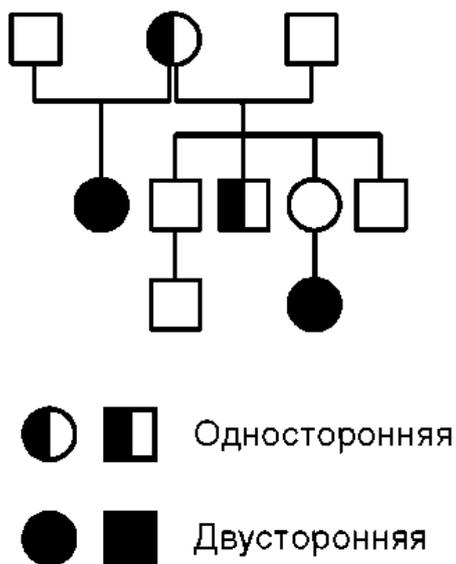


Рис. 5.5. Родословная при аутосомно-доминантном типе наследования в условиях неполной пенетрантности аллеля (ретинобластома)

5.2.2.1-б. Родословные при аутосомно-рецессивном типе наследования

Рецессивные признаки проявляются фенотипически лишь у гомозигот по рецессивным аллелям. Эти признаки, как правило, обнаруживаются у детей фенотипически нормальных родителей, которые, будучи гетерозиготами, являются носителями соответствующих аллелей и могут передать их потомкам. В таких случаях вероятность рождения потомков рецессивных гомозигот равна 25%. Вероятность рождения детей с указанной генетической конституцией выше в близкородственных браках. У родителей рецессивных гомозигот по анализируемому аллелю рецессивный признак будет воспроизведен в фенотипе всех (100%) рожденных ими детей (рис. 5.6). Для родословных при аутосомно-рецессивном типе наследования характерно, что потомки-носители признака обнаруживаются не в каждом поколении.

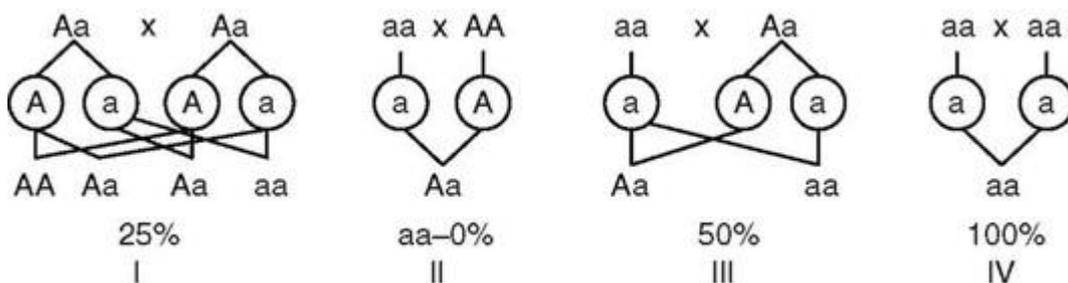


Рис. 5.6. Вероятность появления ребенка с аутосомным рецессивным признаком при различной генетической конституции родителей (I-IV)

В качестве примера аутосомно-рецессивного типа наследования патологического фенотипа приводится родословная пациента с псевдогипертрофической прогрессивной миопатией, в которой высока частота близкородственных браков (рис. 5.7).

5.2.2.1-в. Родословные при доминантном X-сцепленном типе наследования

Гены, размещающиеся в хромосоме x и не имеющие парных аллелей (гомологичных локусов) в хромосоме Y , представлены в генотипах мужчин и женщин в разных дозах. Женщина (гомогаметный пол) получает две свои хромосомы X и соответствующие гены как от отца, так и от матери, тогда как мужчина (гетерогаметный пол) получает свою единственную хромосому X только от матери. Соответствующий фенотипический признак у мужчин, таким образом, определяется единственным аллелем, присутствующим в его генотипе, а у женщин он определяется характером взаимодействия двух аллельных генов. В связи с этим признаки, наследуемые по X-сцепленному типу, воспроизводятся в фенотипах мужчин и женщин с разной вероятностью.

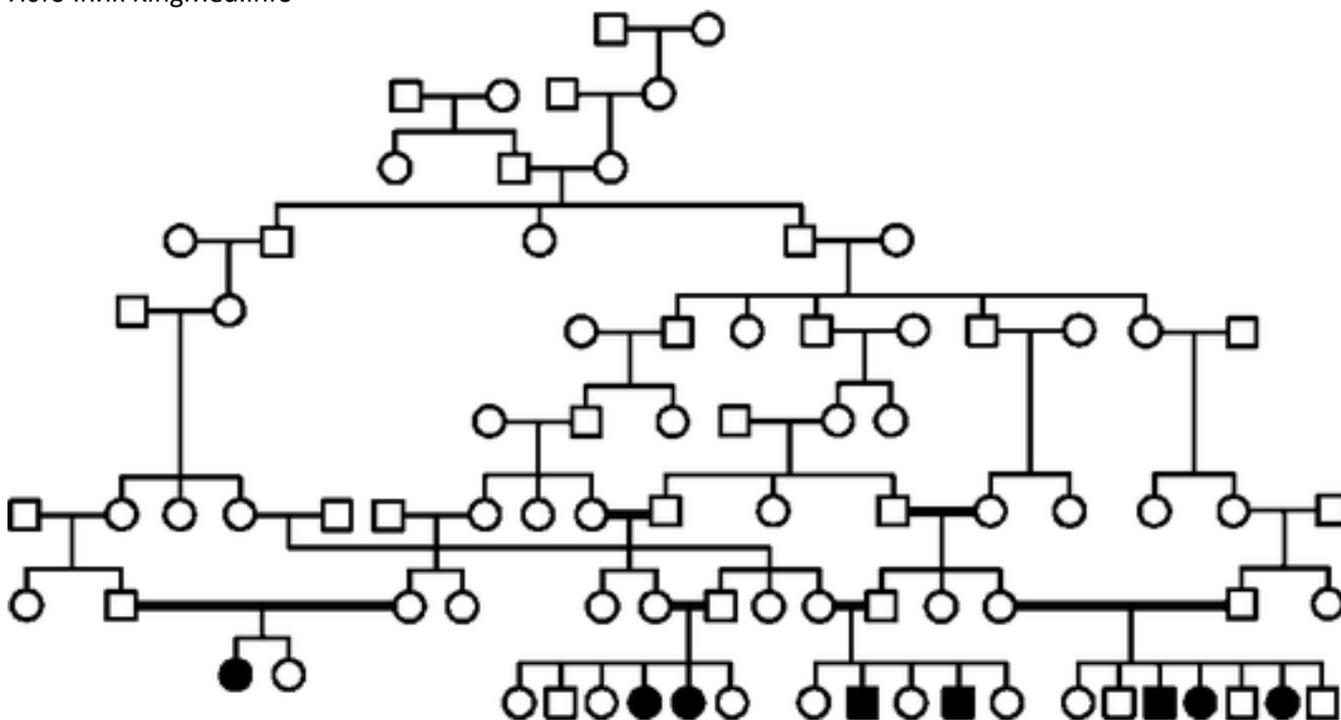


Рис. 5.7. Родословная при аутосомно-рецессивном типе наследования (псевдогипертрофическая прогрессирующая миопатия)

При доминантном X-сцепленном типе наследования признак чаще обнаруживается у женщин, которые могут получить соответствующий аллель и от отца, и от матери. Мужчины наследуют доминантный X-сцепленный признак (аллель) исключительно по материнской линии. Женщины передают доминантный X-сцепленный признак (аллель) в равной степени сыновьям и дочерям, а мужчины - только дочерям.

В качестве примера доминантного X-сцепленного типа наследования приводится родословная пациента с фолликулярным кератозом - кожным заболеванием, сопровождающимся потерей ресниц, бровей, волос на голове (рис. 5.8). Характерно более тяжелое течение заболевания у гемизиготных мужчин в сравнении с женщинами, большинство которых гетерозиготны (см. п. 4.3.4).

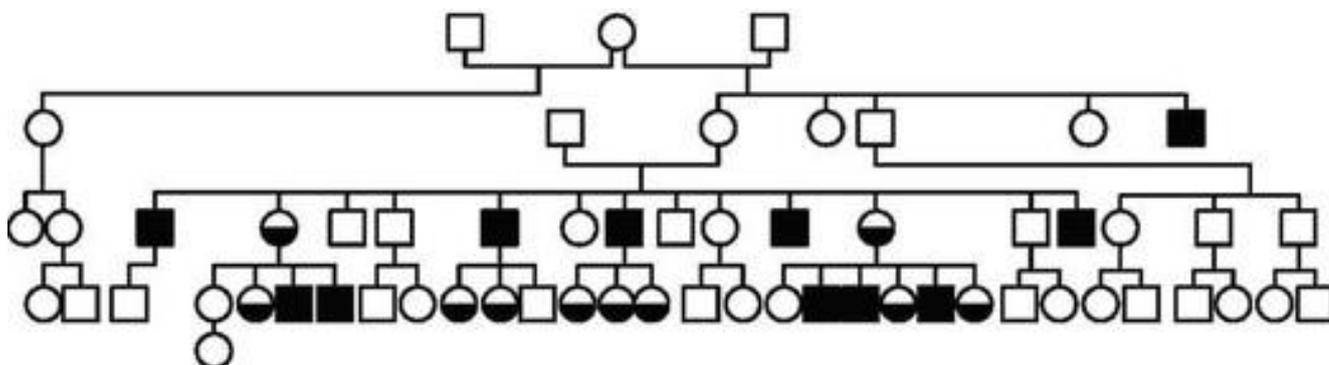


Рис. 5.8. Родословная при доминантном X-сцепленном типе наследования (фолликулярный кератоз)

При ряде наследственных болезней (пигментный дерматоз), определяемых получением потомком доминантного X-сцепленного аллеля, гемизиготные зародыши мужского пола нежизнеспособны и погибают на ранних стадиях онтогенеза. В таких случаях в родословных все пораженные лица имеют женский пол. Среди их детей отношение пораженных дочерей,

Источник KingMed.info

здоровых дочерей и здоровых сыновей равно 1:1:1. Если гемизиготы мужского пола, унаследовавшие летальный доминантный X-сцепленный аллель, переживают самые ранние стадии онтогенеза, то их смертью, случающейся в плодный период внутриутробного развития, объясняется часть самопроизвольных выкидышей (абортов) и мертворождений.

5.2.2.1-г. Родословные при рецессивном X-сцепленном типе наследования

Характерная особенность родословных при рассматриваемом типе наследования - преимущественное проявление соответствующего признака в фенотипах гемизиготных мужчин, которые наследуют его от фенотипически нормальных матерей, носительниц рецессивных аллелей в гетерозиготном состоянии. Как правило, признак наследуется мужчинами через поколение (дед по материнской линии → внук). У женщин проявление признака возможно, если они гомозиготны по рецессивному аллелю анализируемого гена, вероятность чего выше в близкородственных браках.

Классический пример рецессивного X-сцепленного типа наследования - гемофилия А (рис. 5.9).

5.2.2.1-д. Родословные при Y-сцепленном типе наследования

Наличие хромосомы Y исключительно у представителей мужского пола объясняет главную особенность Y-сцепленного типа наследования -

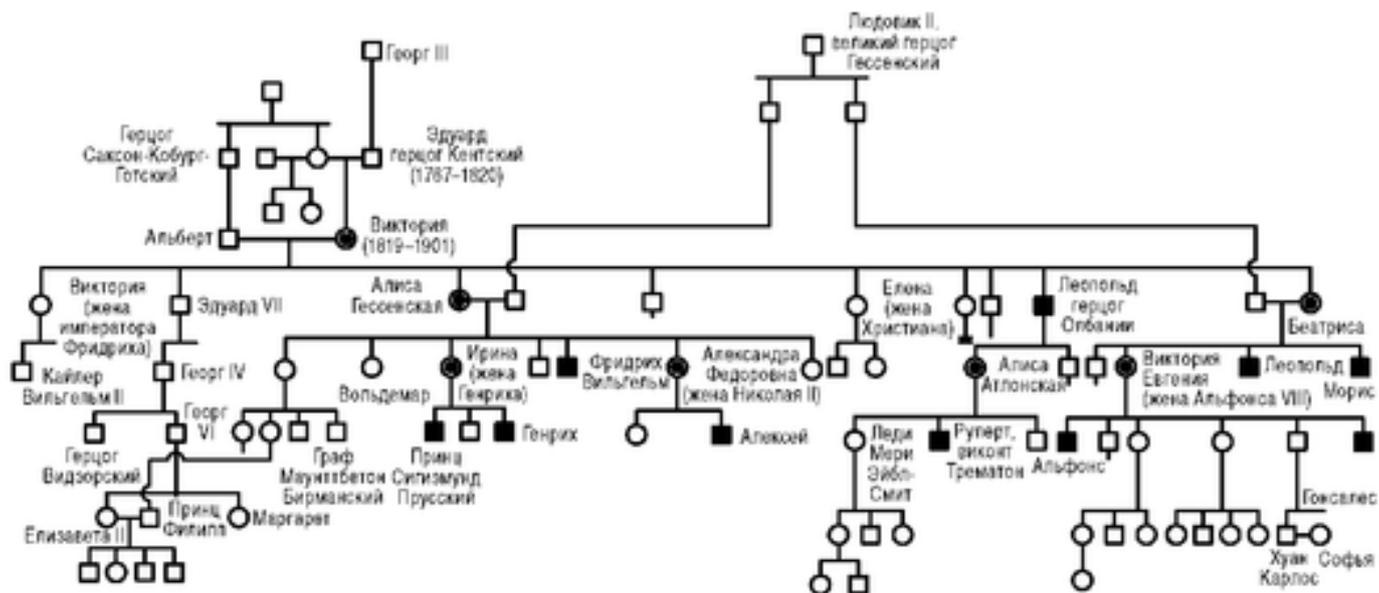


Рис. 5.9. Родословная последнего наследника российского престола царевича Алексея, страдавшего гемофилией. Рецессивный X-сцепленный тип наследования

ния, заключающаяся в том, что соответствующий признак наследуется в ряду поколений только по мужской линии, т.е. передается от отца к сыну (рис. 5.10). Именно таким образом наследуется ряд патологических состояний, проявляющихся в нарушениях развития признаков мужского пола, важных с точки зрения выполнения генеративной функции, например дисгенезия гонад типа 3.

Источник KingMed.info

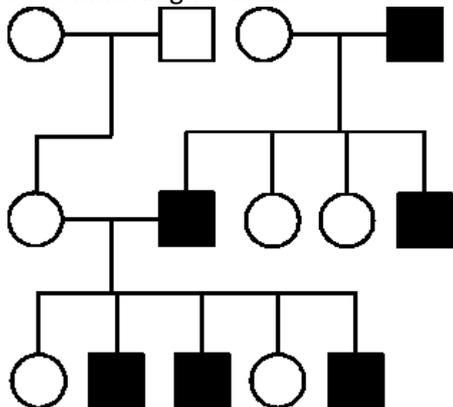


Рис. 5.10. Родословная при Y-сцепленном типе наследования

Первый и долгое время оставшийся единственным фенотипический признак, в отношении которого предполагалось голанд-дрическое (Y-сцепленное) наследование, -

гипертрихоз ушной раковины (пучки жестких волос, растущие из ушных раковин). Y-сцепленный тип наследования этого признака и сейчас остается предметом обсуждения.

На настоящий момент в хромосоме Y идентифицировано несколько генов, контролирующих образование белков «домашнего хозяйства» (*housekeeping proteins*), имеющих гомологи в хромосоме X, не инактивируемые при гиперспирализации хромосомы X с образованием тельца полового хроматина. Тип наследования признаков, контролируемых этими генами, соответствует тому, который присущ признакам, контролируемым аутосомными генами.

Убедительно доказать факт голандрического наследования на основании анализа родословных объективно трудно. Всегда существует необходимость дифференцировать его от аутосомно-доминантного типа наследования.

5.2.2.2. Близнецовый метод генетического анализа человека

Близнецовый метод генетического анализа человека предложен Ф. Гальтоном (см. п. 4.2) в 1895 г. первоначально для оценки роли наследственности и среды в развитии психических свойств человека. Названный метод заключается в изучении закономерностей наследования признаков в парах одно- и двуяйцовых близнецов. В настоящее время он широко используется в изучении закономерностей наследования и изменчивости разнообразных нормальных и патологических признаков у человека для суждения о соотносительной роли генетических и средовых факторов (**генофенотипические корреляции**) в их формировании. Этот метод дает возможность выявить наследуемость признака, определить пенетрантность аллеля (признака), а также оценить эффективность действия на организм некоторых внешних факторов, например лекарственных средств, воспитания, обучения.

Генетическая основа метода состоит в том, что сравнивается проявление фенотипического признака в разных группах детей-близнецов при учете большего или меньшего сходства их генотипов. Действительно, в отличие от **двужайцовых (дизиготных) близнецов (ДБ), однойяйцовые (монозиготные) близнецы (ОБ)**, развивающиеся из одной оплодотворенной яйцеклетки (зиготы), генетически идентичны, т.е. имеют 100% общих генов (сайтов, нуклеотидных последовательностей ДНК). В силу отмеченного среди монозиготных близнецов наблюдается высокий процент конкордантных пар по наличию в фенотипе обоих сибсов - братьев и сестер (**сибсы** - все дети одной супружеской пары) и конкретному фенотипическому проявлению соответствующего признака.

Сравнение фенотипов монозиготных близнецов, разлученных вскоре после рождения и, следовательно, воспитывавшихся в разных условиях (например, в разных семьях), позволяет выявить признаки, в формировании которых существенная роль принадлежит факторам среды, в том числе социально-культурной. По названным фенотипическим признакам между однойцовыми близнецами (генетически идентичными) наблюдается **дискордантность**, т.е. либо отсутствие признака у одного из них, либо признак у близнецов находится в разном состоянии. Напротив, сходство (**конкордантность**) вплоть до уровня идентичности близнецов по состоянию определенного признака, несмотря на различия условий постнатального развития и существования сибсов, свидетельствует о наследственной обусловленности анализируемого признака.

Сопоставление данных, характеризующих конкордантность по конкретному признаку в парах генетически идентичных монозиготных близнецов (100% общих генов) и в парах дизиготных близнецов, которые имеют в среднем порядка 50% общих генов, дает возможность более объективно судить о роли генотипа в формировании соответствующего признака. Близость показателей конкордантности в парах монозиготных и дизиготных близнецов говорит о незначительном вкладе генетических факторов и об определяющей роли среды в формировании признака или в развитии заболевания. Достоверно различающиеся, но достаточно низкие показатели конкордантности в парах одно- и двухйцовых близнецов указывают на наличие наследственной предрасположенности к формированию признака (в том числе патологического), развивающегося под очевидным влиянием факторов среды.

Трудности применения в целях генетического анализа человека близнецового метода связаны, во-первых, с относительно низкой частотой рождения близнецов в большинстве популяций людей (согласно данным мировой статистики, 1 роды двойней на 86-88 родов или 1-2% близнецов среди новорожденных; к сведению, 1 роды тройней приходятся на 10-15 тыс. родов), что осложняет подбор достаточного числа пар с анализируемым признаком, и, во-вторых, с надежной идентификацией (диагностикой) факта монозиготности близнецов, что имеет принципиальное значение для получения достоверных выводов.

Для подтверждения монозиготности близнецов используют ряд подходов:

- сравнение по многим, главным образом морфологическим признакам - пигментация глаз, волос и кожи, особенности волосяного покрова на голове и теле, а также форма волос, форма ушей, носа, губ и ногтей, пальцевые узоры (полисимптомный подход);
- сравнение по эритроцитарным антигенам - группы крови *ABO*, резус, *MN* и др., по белкам сыворотки крови - γ -глобулин, гаплотипам *HLA* (от англ. **H**uman **L**eukocyte **A**ntigen - человеческие лейкоцитарные антигены, аналог главного комплекса гистосовместимости, или *MHC* (англ. *Major Histocompatibility Complex*), животных): все перечисленные маркеры относятся к категории моногенных мен-делирующих признаков, а контролирующие их гены отличаются узкой нормой реакции, см. п. 4.1.1 (иммунологический подход);
- сравнение данных ЭКГ и ЭГ - электрокардиограмм и энцефалограмм - близнецов (клинико-функциональный подход);
- трансплантационный тест, заключающийся в перекрестной пересадке кожи у близнецов (вариант иммунологического подхода, успешная перекрестная пересадка - наиболее достоверный критерий монозиготности).

Приведем несколько примеров применения близнецового метода из области клинической медицины. Так, конкордантность в парах монозиготных и дизиготных близнецов составляет по

Источник KingMed.info

умственной отсталости 97 и 37%, по шизофрении 69 и 10%, по эпилепсии 67 и 30%, по кори 97 и 94%, по скарлатине 55 и 47%. Можно заключить, что роль генотипа в развитии первых 3 из названных патологических состояний представлена достаточно отчетливо, тогда как в развитии последних двух патологий (инфекционные заболевания) приоритетное значение имеет контакт с возбудителем, т.е. с фактором, находящимся в среде. В отношении туберкулеза (конкордантность в монозиготных парах 53% и в дизиготных парах 21%) можно думать о наличии генетической предрасположенности. Вместе с тем важно помнить, что в качестве обязательной характеристики среды жизни, в которой при любой генетической конституции возможно заражение туберкулезом, является присутствие в ней возбудителя - *бациллы Коха*.

Близнецовым исследованиям принадлежит заметное место в изучении генетики поведения, в частности, таких характерологических (личностных) свойств людей, как агрессивность или склонность к действиям, направленным на отпор насилию, асоциальное (преступное) поведение и законопослушность, лживость и искренность, а также генетики конформизма и лидерства, интеллекта, гениальности. Близнецовый метод остается одним из активно используемых специалистами по общей и медицинской психологии.

5.2.2.3. Цитогенетический метод генетического анализа человека

В основе **цитогенетического метода** лежит изучение с помощью микроскопа хромосом клеток человека. Его стали широко применять в исследованиях по генетике человека (включая медицинскую генетику) с 1956 г., когда шведские ученые Дж. Тийо и А. Леван (см. п. 4.2), предложив оригинальную методику изучения метафазных хромосом, доказали, что в **кариотипе человека 46 хромосом**, а не 48, как считали ранее. Современный этап в применении цитогенетического метода связан с разработкой и введением в практику работы цитогенетиков **дифференциальной** или **избирательной окраски хромосом** (Т. Ка-сперсон, Швеция, 1969), что дало возможность точно идентифицировать каждую хромосому по характеру распределения окрашиваемых сегментов (см. п. 4.3.4, рис. 5.11). При отсутствии методов дифференциальной окраски идентификацию хромосом проводили по их размерам, положению центромеры (первичная перетяжка) и соотношению длин плеч (центромерный индекс), наличию вторичных перетяжек и спутников (рис. 5.12). В таких условиях не удавалось достичь абсолютной персонификации хромосом. Каждую хромосому относили к одной из 9 групп (A - 1, 2 и 3, B - 4 и 5, C - 6, 7 и X, C' - 8 и 9, C'' - 10, 11 и 12, D - 13, 14 и 15, E - 16, 17 и 18, F - 19 и 20, G - 21, 22 и Y) в порядке убывания размеров. Разграничение между хромосомами в пределах групп проводили, используя дополнительные критерии, например присутствие спутников.

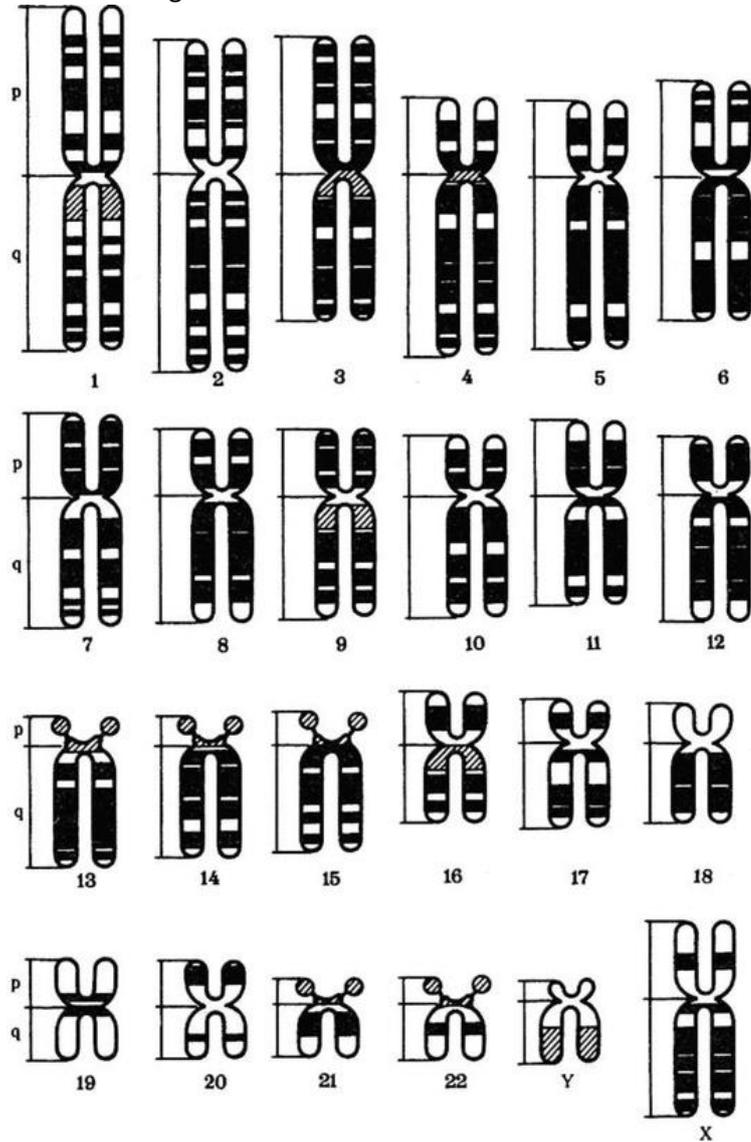


Рис. 5.11. Расположение полос в хромосомах человека при их избирательном окрашивании: p - короткое плечо, q - длинное плечо; 1-22 - порядковый номер хромосомы (аутосомы), XY - половые хромосомы

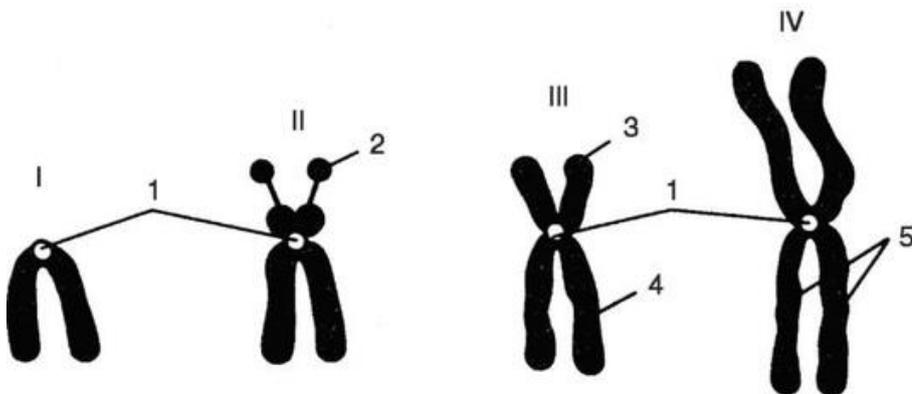


Рис. 5.12. Метафазные хромосомы при сплошной их окраске: I - телоцентрическая хромосома; II - акроцентрическая хромосома; III - субметацентрическая хромосома; IV - метацентрическая хромосома, основания идентификации: 1 - центромера, 2 - спутник, 3 - короткое плечо, 4 - длинное плечо, 5 - хроматиды

Источник KingMed.info

Цитогенетический метод позволяет изучать нормальную морфологию хромосом (в том числе с учетом их полиморфизма) и кариотипа в целом, устанавливать генетический (хромосомный) пол особи, а также диагностировать хромосомные болезни, связанные с изменением числа отдельных хромосом и хромосомных наборов (анэуплоидии, гаплоидия и полиплоидия, см. п. 4.3.3.3) или с нарушением их структуры (хромосомные aberrации, см. п. 4.3.2.2).

Цитогенетический метод широко применяется в МГК в целях пренатальной (в том числе предымплантационной) диагностики хромосомных болезней, что дает возможность путем своевременного прерывания беременности избежать рождения потомства с грубыми нарушениями развития.

Материалом для цитогенетических исследований служат клетки из разных тканей и органов человека - лимфоциты периферической крови, клетки костного мозга, фибробласты кожи, клетки опухолей и эмбриональных тканей. Непременное условие применения цитогенетического метода - наличие в материале делящихся клеток. Цитогенетики обычно используют относительно легкодоступный материал - лимфоциты периферической крови, которые в условиях *in vitro* путем обработки веществом фитогемагглютинином переводят в состояние митотического деления. Непосредственный объект цитогенетических исследований - **метафазные хромосомы** на гистологических препаратах так называемых **метафазных пластинок**. Находящиеся в состоянии максимальной спирализации (см. п. 3.1.1.2) метафазные хромосомы хорошо видны в микроскоп. Для повышения количества метафазных клеток переход из метафазы в анафазу митоза блокируют путем обработки клеточной культуры колхицином или колцемидом, которые разрушают веретено деления.

Мазки, приготовленные из культуры, обогащенной клетками в метафазе митоза, после обычной или избирательной окраски хромосом микроскопируют. Отдельные метафазные пластинки фотографируют. Фотографии используют для составления кариограмм, в которых гомологичные хромосомы выстроены парами, распределены по группам или, при избирательном окрашивании, располагаются попарно в соответствии с их порядковым номером в кариотипе (рис. 5.13, см. также рис. 5.11). В последнем случае хромосомный ряд кариограммы завершает пара половых хромосом.

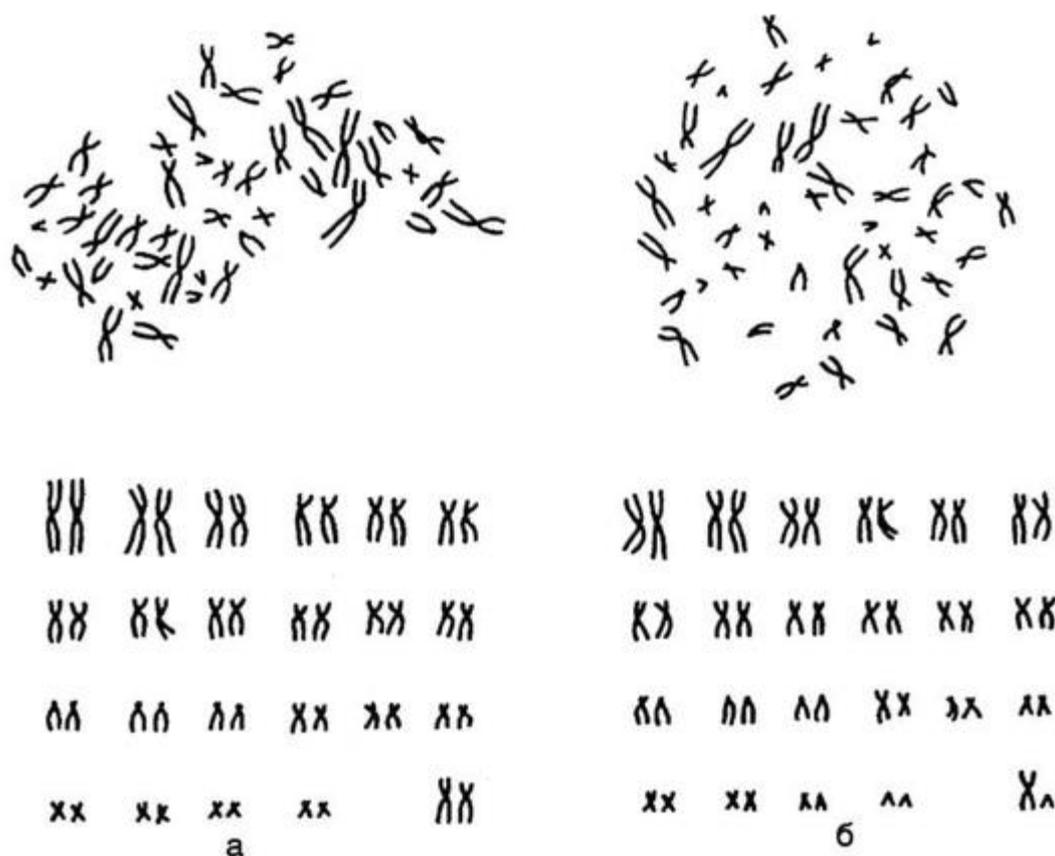


Рис. 5.13. Нормальный кариотип человека: а - женщина, б - мужчина; вверху - хромосомные комплексы (метафазные пластинки); внизу - кариограммы

5.2.2.3-а. Неинвазивные методы генетического анализа человека: научно-практическое наследие классической генетики

В медицине к категории **неинвазивных методов** относят такие, осуществление которых происходит при сохранности пограничных тканей и структур организма (методы лучевой диагностики - рентгенологическое и ультразвуковое исследования, различные варианты томографии), а также если требуемый для исследования биологический материал получают без нарушения целостности кожных покровов, слизистых оболочек, стенок полостей тела, кровеносных сосудов и т.п.

С целью диагностики изменения числа хромосом X в цитогенетике применяют неинвазивный метод определения числа телец полового хроматина в неделящихся клетках слизистой оболочки щеки, которые получают путем соскоба. Тельце **полового хроматина (тельце Барра)** в ядрах клеток генотипически нормальных женщин присутствует в единственном экземпляре - в связи с функционально-генетической инактивацией одной из двух хромосом X путем ее гетерохроматизации (см. п. 2.4.3.4-в). Такое тельце выглядит как интенсивно окрашенная красителем основного характера (например, гематоксилином), расположенная обычно вблизи ядерной оболочки с внутренней ее стороны структура (рис. 5.14). В случае увеличения в кариотипе числа хромосом X сверх положенных двух растёт и число выявляемых телец полового хроматина, которое всегда на единицу меньше числа хромосом X . При уменьшении числа хромосом X до одной (моносомия X , синдром Шерешевского-Тернера, кариотип $45X0$) тельце Барра в ядрах соматических клеток отсутствует.

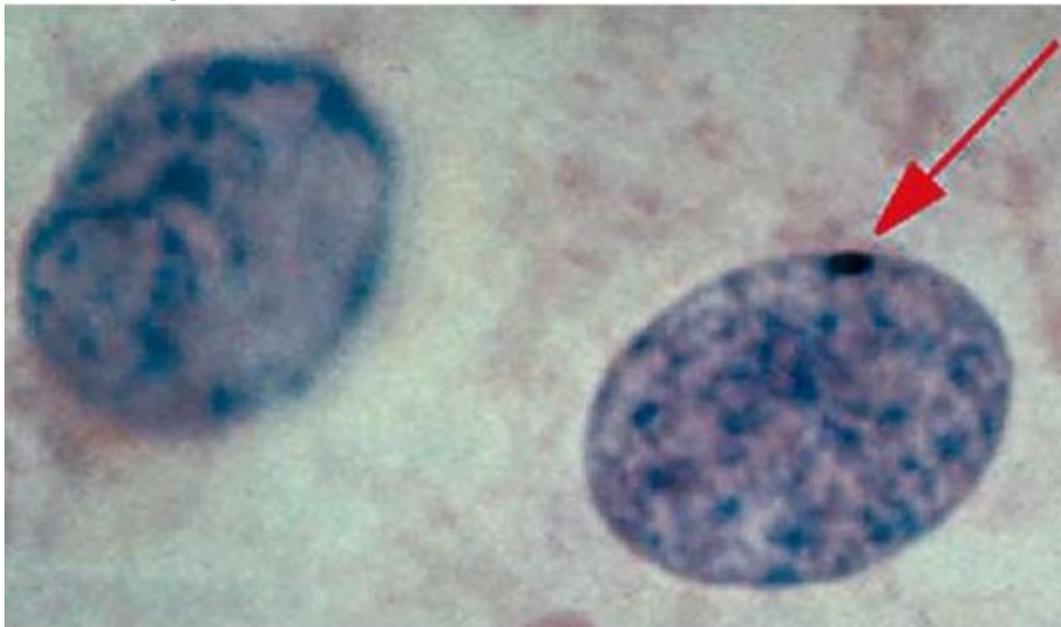


Рис. 5.14. Тельце Барра в ядре клетки

В кариотипе мужчин можно идентифицировать хромосому Y по более интенсивной в сравнении с другими хромосомами флуоресценции после обработки метафазных препаратов акрихинипритом и, следовательно, посчитать их количество (цитогенетическая диагностика синдрома Клейнфельтера, возможные кариотипы 47XYY, 48XYYY).

В антропогенетике используются методы **дерматоглифики** и **пальмоскопии**, которые также неинвазивны. Они заключаются в изучении, в первом случае кожных гребешковых узоров пальцев и ладоней, во втором - сгибательных ладонных борозд. Основанием к применению названных методов в целях генетического анализа людей послужили результаты исследований, указывающие на то, что характерные изменения дерматоглифических рисунков кожи пальцев и ладоней, характера основных ладонных борозд наблюдаются при определенных хромосомных болезнях - синдромах Дауна, Клейнфельтера, Шерешевского- Тернера, синдроме «кошачьего крика» (делеция короткого плеча хромосомы 5; симптомы - низкая масса тела при рождении, отставание в развитии, лунообразное лицо с широко расставленными глазами, недоразвитие гортани, что проявляется в характерном плаче, напоминающем кошачье мяуканье).

Дерматоглифические исследования проводят с целью установления отцовства и идентификации близнецов (см. также п. 5.2.2.2). В последнем случае заключение в пользу монозиготности следует, если из 10 гомологичных пальцев сходные узоры имеют не менее 7, а в пользу дизиготности, если сходные узоры наблюдаются на 4-5 пальцах.

Методы дерматоглифики и пальмоскопии предложены Ф. Гальтоном в 1892 г., хотя основы для классификации кожных узоров были разработаны Я. Пуркинью в 1823 г. В современной антропогенетике и медицинской генетике дерматоглифика и пальмоскопия как методы генетического анализа людей утрачивают свои позиции, так как в сравнении с цитогенетическим, молекулярно-цитогенетическим и молекулярно-генетическими методами проигрывают в информативности и, следовательно, в определенности заключений. Тем не менее в некоторых ситуациях они могут быть использованы в скрининговых исследованиях или как вспомогательные врачами практического здравоохранения при решении вопроса о целесообразности медико-генетической консультации.

5.2.2.3-б. Молекулярно-цитогенетический метод генетического анализа человека

Источник KingMed.info

Молекулярно-цитогенетический метод анализа хромосом дает возможность преодолеть ограничения цитогенетического метода в его классическом формате. Так, в кариотипе обследуемого удастся обнаружить хромосомные aberrации, даже если их несколько и они произошли в разных хромосомах, а также, если они захватывают участок хромосомы относительно небольших размеров.

Основу метода составляет процедура флуоресцентной гибридизации *in situ* (англ. **FISH** - *fluorescent in situ hybridization*). Речь идет о приготовлении **ДНК-зондов**, представляющих собой определенные по нуклеотидному составу **фрагменты ДНК**, помеченные **флюорохромом** (флюоресцирующий краситель). В указанной конструкции функцию зонда выполняет фрагмент ДНК, который находит в геноме (генотипе, кариотипе) обследуемого «свой» - т.е. комплементарный - участок ДНК и прикрепляется к нему («садится» на него). Благодаря наличию в конструкции флюорохрома место «посадки» ДНК-зонда определяется по специфическому свечению при микроскопировании гистологических препаратов. При этом обычно используют люминесцентный микроскоп, допускающий работу в УФ части спектра. Объектом микроскопирования могут быть как метафазные хромосомы (см. п. 5.2.2.3, цитогенетический метод), так и хроматин ядер неделящихся клеток (интерфазные хромосомы).

Молекулярно-цитогенетический метод (*FISH*-метод в различных его модификациях, например, с одновременным использованием нескольких флюорохромов, дающих разную окраску; известна технология 24-цветная *FISH* для одномоментной идентификации и нумерации 22 ау-тосом, хромосом X и Y), в сравнении с классическим вариантом цитогенетического исследования, позволяет провести анализ количественных изменений и структурных перестроек хромосом быстрее и эффективнее. В силу этого ему отдают предпочтение в ситуациях, требующих проведения высокоинформативной экспресс-диагностики (пренатальное выявление хромосомных aberrаций). При соблюдении ряда технических условий он дает возможность идентифицировать места хромосомных разрывов при транслокациях, инверсиях, делециях. *FISH* молекулярно-цитогенетический анализ в силу того, что он позволяет локализовать ген (нуклеотидную последовательность ДНК) на хромосоме, нашел применение при составлении физических карт хромосом (см. п. 4.3.2.1) человека. В практике МГК он используется в целях уточнения характера генетического дефекта (ДНК-диагностика), вызвавшего патологические фенотипические проявления у пациента (пробанда), или же для подтверждения факта гетерозиготного носительства «проблемного» рецессивного аллеля (например, фенилкетонурии) потенциальными родителями (супругами).

5.2.2.3-в. Молекулярно-генетические методы генетического анализа человека (ДНК-диагностика)

В последнее время практическая медицина обогатилась значительным числом молекулярно-генетических диагностических методов, что связывают с осуществлением проекта «Геном человека» - **геномные (постгенеомные) технологии**. Интерес к **методам молекулярно-генетического анализа людей (ДНК-диагностика)** стимулируется осознанием того, что непереносимое условие повышения эффективности профилактических, превентивных и терапевтических медицинских (здравоохраненческих) мероприятий - информация о генетической конституции отдельных лиц (см. предисловие: геномное тестирование или портретирование) и об особенностях гено(аллело)фондов человеческих популяций или иных групп населения. Этим в немалой степени объясняется «бум» в области биомедицинских исследований, направленных на поиск диагностических и прогностических маркеров (в том

Источник KingMed.info

числе генетических) распространенных и «грозных» патологических состояний, в частности онкологических.

Нельзя забывать о таких генетических явлениях, как генокопирование и фенокопирование, неполная экспрессивность и пенетрантность, генетическая гетерогенность (см. п. 4.3.1.1), затрудняющих диагностику многих наследственных болезней. К примеру, моногенное наследственное заболевание «муковисцидоз» (кистозный фиброз поджелудочной железы), по распространенности занимающее первое место в группе аутосомно-рецессивных болезней человека, обусловлено мутациями в разных частях гена, картированного на длинном плече хромосомы 7 (7q31.2). У 50-70% пациентов мутация представлена делецией трех нуклеотидов в 10-м экзоне гена - *delF508*. Фенотипический эффект мутации состоит в отсутствии в кодируемом полипептиде (всего 1480 аминокислот) в 508-м положении аминокислоты фенил-ланина. Названный полипептид участвует в обеспечении функции хлор-натриевого чрезмембранного транспортного канала в железистых экзокринных клетках. К настоящему времени известно порядка 600 (по другим источникам, 800) мутаций гена, приводящих к муковисцидозу (часть пациентов несет одновременно две мутации - **генетические компаунды**). Из нескольких сотен мутаций клинический интерес представляют порядка шести, так как именно они являются причиной развития патологического фенотипа (т.е. заболевания) у 70% пациентов. При синтезе железистыми клетками бронхов, поджелудочной железы и эпителиальной выстилки кишечника, слизистой оболочки придаточных пазух носа и других органов мутантного полипептида повышается вязкость образуемого ими слизистого секрета. Это приводит к закупориванию путей оттока слизи и развитию воспаления. Диагноз может быть поставлен на основании клинической картины, в которой сочетаются симптомы поражения бронхолегочного аппарата, кишечные расстройства, признаки дисфункции поджелудочной железы, а также на основании данных лабораторных исследований, в частности, если в поте обнаруживается ненормально высокая (свыше 60 ммоль/л) концентрация хлоридов. Установлена определенная зависимость тяжести заболевания от типа мутации, которая его вызвала. Сейчас методами ДНК-диагностики тип мутации, приводящей к муковисцидозу, определяется с надежностью в 72%, т.е. диагностическая эффективность (информативность) не достигает желаемых 100%. Предположительно, одна из причин состоит в многочисленности мутаций гена, приводящих к соответствующему патологическому фенотипу (т.е. к болезни). Показатели эффективности ДНК-диагностики различны для разных заболеваний. В случае ахон-дроплазии и хореи Гентингтона, например, они достигают 100%, тогда как в случае миодистрофии Дюшена - 60%.

Различают **прямые** и **косвенные методы ДНК-диагностики**. Первые применяются, если известны: ген, ответственный за развитие соответствующего наследственного заболевания, основные типы его патологических (патогенных) мутаций - в случае муковисцидоза наиболее частая (мажорная) мутация - *delF508* (см. здесь же, выше).

В настоящее время приоритетная роль в качестве основы ДНК-диагностики переходит к методу **ПЦР (Полимеразная Цепная Реакция)**, или **PCR** (англ. **Polymerase Chain Reaction**). Названный метод дает возможность в условиях *in vitro* в течение 1 ч получить миллионы копий заданного (представляющего интерес для исследователя или врача) фрагмента молекулы (нуклеотидной последовательности) ДНК, использование которых благодаря их многочисленности существенно облегчает идентификацию в геноме пациента (пробанда) сайта ДНК, представляющего диагностический интерес. Популярность метода ПЦР в медицинской среде объясняется также тем, что он широко используется в целях высокоточной и надежной диагностики вирусных (СПИД, вирусные гепатиты) и инфекционных заболеваний по выявлению нуклеиновой кислоты возбудителя.

Источник KingMed.info

Альтернативным методу ПЦР, уступающим ему позиции в качестве основы ДНК-диагностики, является метод **блот-гибридации** (от англ. *blot* - пятно, клякса; *blotting paper* - промокашка, фильтровальная бумага). В арсенале молекулярных и медицинских генетиков этот метод появился раньше метода ПЦР. Технически он более сложен, требует использования радиоактивных материалов. В настоящее время его модификации применяются для решения ряда конкретных задач - гибридизация ДНК-зондов с разделенными с помощью электрофореза молекулами РНК, а также с белковыми молекулами, фиксируемыми на фильтрах с мечеными антителами.

Косвенные методы ДНК-диагностики наследственных (прежде всего, моногенных) болезней (в общем виде молекулярно-генетические методы генетического анализа людей - см. здесь же, выше) основаны на идентификации не патологических (патогенных) мутаций генов непосредственно, а на анализе наличия в геноме и поведения (распределение аллелей генетического маркера в геномах родственников: у сибсов, в парах «дед-внук», «дядя-племянник») в семье обследуемого так называемых **полиморфных генетических маркеров** - участков (ло-кусов) ДНК, тесно сцепленных в соответствующем районе конкретной хромосомы с локусом, ответственным за генетическое заболевание. На настоящий момент на хромосомах человека картировано порядка 6 тыс. таких ДНК-маркеров (полиморфных генных локусов). Для некоторых из них доказана ассоциация с конкретным наследственным или мульти-факторным заболеванием. Так, аллель *B27* генетической системы **HLA** ассоциирован с «анкилозирующим спондилитом» и «псориатическим спондилитом», аллель *DR3* названной системы - с болезнью Аддисона и с рассеянным склерозом, аллель *DR4* - с ревматоидным артритом, аллель *CW6* - с псориазом.

Применение косвенных методов ДНК-диагностики возможно при отсутствии полной информации о «проблемном» гене (он не идентифицирован и поэтому не известен порядок следования в нем нуклеотидных последовательностей, т.е. ген не секвенирован). Необходимо, однако, знать, на какой хромосоме этот ген расположен.

5.2.2.3-г. Современные тенденции в ДНК-диагностике. Использование полиморфных генетических маркеров

Нередко **полиморфные локусы ДНК**, используемые в качестве генетических маркеров, представляют собой нейтральные мутации, не проявляющиеся фенотипически и не влияющие на жизнеспособность и репродуктивные свойства особей, концентрирующиеся в основном в некодирующих областях генома и характеризующиеся менделевским типом наследования.

Высоким уровнем полиморфизма отличаются минисателлитные (длина повторяющегося элемента от 11 до 500 п.н.) и микросателлитные (длина повторяющегося элемента от 2 до 10 п.н.) тандемные повторы (**минисателлитный и микросателлитный генетический полиморфизм**) с меняющимся от хромосомы к хромосоме или от участка к участку одной хромосомы числом повторов. Их число и распределение в геноме каждого человека индивидуализированы настолько, что могут быть использованы для идентификации личности (как отпечатки пальцев). Это обстоятельство послужило основой для разработки методов диагностики наличия родственных связей между людьми (**геномная дактилоскопия**), а также предрасположенности к определенным наследственным и мультифакторным заболеваниям в связи со сцеплением этих локусов с так называемыми **кандидатными генами**. Кандидатным называют ген (сайт, нуклеотидную последовательность ДНК), наличие которого указывает на предрасположенность к конкретной болезни. Ген, вызывающий моногенное наследственное заболевание, один. Кандидатных генов предрасположенности обычно несколько. Так, называют 9 кандидатных генов

Источник KingMed.info

эссенциальной артериальной гипертензии, не менее 6 кандидатных генов атеросклероза. Число идентифицированных кандидатных генов распространенных мультифакторных болезней постоянно растет.

Для целей генодиагностики предрасположенности к мультифактор-ным заболеваниям по обнаружению соответствующего полиморфного генетического маркера в настоящее время в качестве наиболее перспективного называют анализ **ОНП** геномов обследуемых. ОНП также называют **снипсами** (англ. **SNPs**). Это самый распространенный вариант ДНК-полиморфизмов, многократно превосходящий по представленности в геноме минисателлитные и микросателлитные полиморфизмы. По своему происхождению ОНП - следствие точечных мутаций, затрагивающих всего одну пару нуклеотидов. Подсчитано, что в геноме человека количество таких вариабельных пар нуклеотидов составляет 3 млн (в среднем одна измененная пара нуклеотидов на каждую 1000 п.н.). Уже идентифицировано более 2,2 млн ОНП, причем около 99% их расположено в участках молекул ДНК, не кодирующих последовательности аминокислот в полипептидах, что указывает на возможную причину высокой сохранности ОНП в геноме. Принимая, что количество кодирующих (транскрибируемых и транслируемых, экспрессируемых) генов в геноме человека равно 30-35 тыс., а их размеры колеблются в диапазоне от 1 тыс. до 1 млн п.н., можно предположить нахождение внутри

каждого гена (в том числе «проблемного» - патогенного, кандидатно-го) или в непосредственной близости от него (в состоянии сильного сцепления с ним) одного или даже нескольких ОНП. Этим определяется перспективность анализа ОНП (*SNP*) в целях получения информации о «биологическом или генетически-биоинформационном и, таким образом, отчасти медицинском качестве» генома отдельно взятого лица. Для получения названной информации необходимо иметь **«сводную карту»** расположения **ОНП в геноме** человека. Работа по составлению такой карты начата в 1999 г., когда был запущен исследовательский проект идентификации и картирования исключительно ОНП. Наличие такой карты - одна из предпосылок к проведению широкомасштабной работы по геномной паспортизации людей, что даст персонифицированную информацию, полезную при выборе профессии, вида спорта, супруги или супруга, местожительства, при определении приоритетных действий, направленных на профилактику болезней, сохранение и/или даже преумножение здоровья, воплощение в практическом здравоохранении принципа «лечить не болезнь, а больного».

5.2.2.4. Метод генетики соматических клеток

Суть **метода генетики соматических клеток** сводится к использованию в целях генетического анализа человека культур клеток, получаемых из различных источников, - периферическая кровь, кожа, скелетная мускулатура, биопсийный материал (клетки плаценты и ворсин хориона плода, опухолей), амниотическая жидкость. В зависимости от задачи проводят простое культивирование клеток *in vitro*, клонирование (получение от одной клетки генетически идентичного клеточного потомства), селекцию (отбор из клеточной массы клеток с заданной характеристикой, например, несущих определенную мутацию), гибридизацию клеток, различающихся по некоторым характеристикам, полученных от разных людей или от человека и животного другого вида - мыши, крысы, курицы, хомячка, обезьяны, генетическую модификацию клеток с использованием генно-инженерных технологий *knock out* (инактивация конкретного гена, замена аллеля дикого типа на мутант-ный) и *knock in* (введение в клеточный геном определенного гена).

Культивирование клеток решает задачу увеличения массы биоматериала, получаемого, например, от эмбриона или плода, до уровня, позволяющего выполнить в полном объеме цитогенетические - см. п. 5.2.2.3, биохимические - см. п. 5.2.2.5, иммунологические - см. п. 5.2.2.6, иные молекулярно-биологические и клеточно-биологические, прежде всего диагностические, исследования. Практикуемые в целях активной профилактики рождения детей с наследственной патологией **плацентоби-опсии** и **хорионбиопсии** (8-12-е недели беременности), **амниоцентез** (забор амниотической жидкости с находящимися в ней клетками, 15-18-е недели беременности), **кордоцентез** (забор пуповинной крови с находящимися в ней клетками, беременность более 18 нед), забор клеток из **бластоцист**, получаемых путем экстракорпорального оплодотворения или маточного лаважа (от франц. *lavage* - мытье, стирка, здесь - промывание полости органа жидкостью с целью извлечения зародыша; срок 90-130 ч после оплодотворения) дают недостаточное количество клеток. Без последующего наращивания объема биоматериала в условиях *in vitro* качественная дородовая (пренатальная) и предымплантационная диагностика генетических дефектов невозможна.

Селекция, клонирование, генетическая модификация клеток расширяют возможности научного анализа форм и степени генетического контроля развития различных (в том числе патологических) фе-нотипических признаков, повышают вероятность выявления стартового патогенетического звена заболевания, в частности, из числа наследственных болезней обмена веществ или наследственных иммунодефи-цитов (отсутствие синтеза или образование функционально дефектного продукта генной активности - фермента, рецептора, иммуноглобулина, транспортного или сигнального белка и т.п.). Названные выше манипуляции с клетками находят применение при создании терапевтических генно-инженерных конструкций, тканеинженерных конструкций для регенеративной медицины (см. п. 3.2).

Гибридизация соматических клеток в условиях культуры дает возможность исследовать сцепление генов и их локализацию на той или иной хромосоме (**картирование**). Особенность межвидовых клеточных гибридов состоит в том, что в последовательных делениях из кариотипа теряются хромосомы предпочтительно одного вида. Клетки-гибриды «человек-мышь», например, утрачивают, причем постепенно, все хромосомы человека, что дает возможность проследить с потерей каждой очередной хромосомы утрату определенных генов (сайтов, нуклеотидных последовательностей ДНК).

Используя метод генетики соматических клеток, изучают характер межгенных взаимодействий, механизмы регуляции генной активности. Получаемые этим методом данные позволяют судить о генетической гетерогенности (см. п. 4.3.1.1) наследственных болезней, а также изучать их патогенез на молекулярном и клеточном уровнях.

5.2.2.5. Биохимический подход в генетическом анализе человека

В основе **биохимического подхода**, в рамках которого в целях генетического анализа человека используются **лабораторно-биохимические** (в том числе **клинические**) **методы**, лежит выявление в фенотипе обследуемого субъекта (пробанда) нормальных или измененных первичных продуктов функциональной активности конкретных генов, например, контролирующих образование α - и β -глобиновых полипептидов гемоглобина или ферментов (см. п. 5.1).

Использование названного подхода и, следовательно, лабораторно-биохимических методов оказалось эффективным в решении диагностических задач и выяснении существенных звеньев патогенеза обширной группы **наследственных болезней обмена веществ**: аминокислот (альбинизм, фенилкетонурия), углеводов (гликогенозы, глюкозурии, галактоземия), липидов

Источник KingMed.info

(липидозы, семейная гиперхолестеринемия), стероидных гормонов (адреногенитальный синдром), эритрона (гемолитические анемии), пуринов и пиримидинов (синдром Криглера-Найяра), металлов (болезнь Вильсона-Коновалова), лизосомных болезней (мукополисахаридозы), пероксисомных болезней (синдром Цельвегера) и др.

Наиболее часто генетический дефект в виде мутации соответствующего гена дает фенотипический (в том числе патологический, клинически значимый) эффект из-за нарушения того или иного метаболического процесса в связи выпадением каталитической функции фермента (см. рис. 5.1). Вследствие такого выпадения могут страдать синтезы, утилизация, транспорт субстратов и/или продуктов соответствующих биохимических реакций. Функционально дефектными могут оказаться белки-клеточные рецепторы, что вызывает отклонения в процессах, требующих «правильно» организованного взаимодействия разных клеток, например морфогенезы (см. синдром тестикулярной феминизации Морриса).

5.2.2.6. Иммунохимический подход в генетическом анализе человека

В основе **иммунохимического подхода**, в рамках которого в целях генетического анализа человека используют **иммуноаналитические методы**, лежит выявление в фенотипе обследуемого субъекта (пробанда) нормальных или измененных первичных продуктов функциональной активности конкретных генов путем постановки специфической **реакции связывания антитела с антигеном**.

Эффективность применения иммунохимических методов существенно повысилась в связи с разработкой на основе целенаправленной селекции и клонирования соматических клеток (см. п. 5.2.2.4) технологии получения гибридом. Так как **гибридома** представляет собой клеточный клон, полученный путем многократных последовательных делений одной клетки-родоначальницы (гибрид опухолевой клетки, способной к неограниченной пролиферации, и нормального иммунного лимфоцита, синтезирующего антитела), все ее клетки образуют определенное антитело или, другими словами, чистый препарат одинаковых иммуноглобулинов. Антитела, образуемые гибридомой, называются **моноклональными** и способны вступать в реакцию исключительно со своим антигеном. Этим обеспечивается высочайшая степень надежности детекции белка, являющегося таким антигеном и одновременно первичным продуктом исследуемого гена. В целях визуализации реакции «антиген-моноклональное антитело» антиген или антитело метятся радиоактивным изотопом (радиоиммунный вариант), ферментом, катализирующим превращение субстрата с образованием окрашенного продукта (иммуноферментный вариант), или флюорохромом (иму-нофлюоресцентный вариант). Таким образом, моноклональные антитела выполняют роль молекулярных зондов (см. п. 5.2.2.3-б).

5.2.2.7. Популяционно-статистический подход в генетическом анализе людей

Особенность популяционно-статистических методов генетического анализа человека состоит в статистической обработке результатов наблюдений.

Популяционно-статистические методы предназначены для изучения распределения избранных фенотипических признаков (в том числе патологических) в группах людей (этнических, региональных, популяциях, демах, изолятах) в одном или в ряду поколений. На основании данных, полученных этим методом, рассчитывают частоту встречаемости в исследуемой группе населения различных аллелей гена или разных генотипов по этим аллелям, степень гетерозиготности и полиморфизма, выясняют распространение в группе определенных наследуемых признаков, включая генетические и мультифакторные болезни, анализируют влияние факторов внешней среды на экспрессию (показатели экспрессивности и

пенетрантности) генов, устанавливают факт наличия отбора (положительного или отрицательного) по отдельным аллелям соответствующих генов, а также природу факторов отбора. Популяционно-статистический подход может быть использован для определения и/или подтверждения типа наследования заболевания; он дает ценные сведения для идентификации факторов, путей и генетических механизмов антропогенеза и расогенеза. Его широко применяют для определения степени межпопуляционного генетического разнообразия, в расчетах генетических расстояний между сравниваемыми популяциями, что дает возможность судить об уровне их генетического родства. Последнее может дать основания к заключению (предположению) об историческом и языковом (лингвистическом, культурном) родстве.

При статистической обработке материала, получаемого путем обследования членов избранной группы людей по интересующему исследователя или врача-генетика признаку, основой для суждений об особенностях генетической структуры группы (генетического состава или аллелофонда популяции) служит закон **генетического равновесия Харди-Вайнберга**. Он отражает закономерность, согласно которой при соблюдении ряда условий соотношение частот аллелей генов в гено(аллело)фонде, а также разных гено(аллело)типов в обследуемой популяции в ряду поколений остается неизменным. Имея данные о частоте встречаемости в популяции рецессивного фенотипа (генотип aa), легко рассчитать частоту встречаемости указанного аллеля (a) в гено(аллело)фонде обследуемого поколения людей. Распространив результаты расчетов на ближайшие поколения, можно предсказать появление в них людей - рецессивных гомозигот и гетерозиготных носителей соответствующего рецессивного аллеля. Данные такого рода важны в прогностическом плане, если этот аллель является патогенным, т.е. в гомозиготном состоянии приводит к развитию наследственной (моногенной) болезни, или же его наличие свидетельствует о генетической предрасположенности к мультифакторному заболеванию. Математическим выражением закона Харди-Вайнберга служит формула:

$$(pA + qa)^2 = 1,$$

$$\text{или } p^2AA + 2pqAa + q^2aa = 1,$$

где p^2 - доля гомозигот по аллелю a ; p - частота аллеля a ; q^2 - доля гомозигот по альтернативному аллелю A ; q - частота аллеля A ; $2pq$ - доля гетерозигот.

Очевидно, что $p + q = 1$. Формула дает возможность рассчитать частоту встречаемости людей с разными генотипами и в первую очередь, что представляет непосредственный интерес для практической медицины, частоту встречаемости гетерозигот - носителей скрытого рецессивного

(нередко «проблемного», патогенного) аллеля. К примеру, альбинизм связан с отсутствием в организме синтеза черного пигмента меланина и является наследственным рецессивным признаком. Частота, с которой в большинстве популяций встречаются альбиносы (генотип aa), составляет 1:20 000. Если $q^2 = 1/20\ 000$, то $q = 1/141$, а $p = 140/141$. В соответствии с законом Харди-Вайнберга частота встречаемости гетерозигот равна $2pq$, т.е. в нашем примере $2(1/141)(140/141) = 280/20\ 000$ или $1/70$. заключаем, что в обследованной популяции гетерозиготные носители аллеля альбинизма встречаются с частотой один на 70 человек.

Факт соответствия частот встречаемости разных признаков среди членов обследуемой популяции людей закону Харди-Вайнберга дает основания утверждать, что развитие анализируемых признаков контролируют аллели одного гена. Так, путем изучения фенотипов было установлено, что среди белого населения США 29,16% имеют группу крови M , 49,58% - группу крови MN и 21,26% - группу крови N , что в точности отвечает формуле $p^2M + 2pqMN + q^2N = 1$. Был сделан вывод, что развитие трех вариантов признака

Источник KingMed.info

обусловлено одним геном (L), имеющего два аллеля (L^M и L^N) с формой взаимодействия в виде кодо-минирования: у лиц с группой крови М генотип $L^M L^M$, у лиц с группой крови N - $L^N L^N$ и у лиц с группой крови MN - $L^M L^N$.

5.2.2.8. Медико-генетическое консультирование

Медико-генетическое консультирование (МГК) - один из видов специализированной медицинской помощи. По своему содержанию это комплекс мероприятий, имеющих целью, во-первых, сообщить людям информацию о возможности появления или повторения у их детей наследственной патологии, т.е. осуществить *медико-генетический прогноз*, и, во-вторых, помочь им сформулировать *отношение к сообщенной информации*. При этом важно, чтобы люди, которые получают информацию, желали и были бы способны контролировать свою репродуктивную функцию. **Медико-генетический прогноз** может быть **проспективным** и **ретроспективным**. От варианта прогноза зависит выбор технологий, применяемых в практике МГК. В силу этого нередко говорят о **проспективном** и **ретроспективном МГК**.

Самостоятельная задача МГК состоит в **содействии врачам в постановке точного диагноза заболеваний генетической природы**. Патогенетическую основу таких заболеваний могут составлять:

- новая патогенная мутация (возникает непосредственно у пациента-пробанда);
- неблагоприятный («проблемный») патогенный аллель или неблагоприятная комбинация мутантных патогенных аллелей, достигающих пациента от родителей (моногенные наследственные болезни с доминантным, рецессивным и сцепленным с полом типами наследования, см. пп. 5.2.2.1-а, б, в, г, д);
- структурные перестройки или изменение числа хромосом (хромосомные наследственные болезни, см. пп.4.3.2.2 и 4.3.3.3);
- особая генетическая конституция человека, при которой требуемый белок-фермент в организме либо не образуется вовсе, либо функционально неполноценен: контакт такого лица с конкретным «разрешающим» фактором внешней среды неизбежно приводит к развитию патологического состояния, тогда как при отсутствии этого фактора человек практически здоров (непереносимость молочного сахара лактозы - выявляется у 85-100% членов некоторых популяций Юго-восточноазиатского региона, у 70-75% представителей ряда популяций афроамериканцев и североамериканских индейцев);
- наличие во внешней среде патогенных факторов, вызывающих при «неблагоприятном» генетическом фоне развитие соответствующего заболевания (болезни с наследственной предрасположенностью).

В задачу **проспективного МГК** входит определение для конкретной пары родителей риска рождения генетически «проблемного» потомства **до зачатия** (на основании анализа кариотипов потенциальных родителей, выявления гетерозиготного носительства, в частности, рецессивных патогенных аллелей; этот вариант МГК настоятельно рекомендуется в ситуациях повышенного риска - близкородственные браки), **до имплантации** начавшего развитие зародыша в стенку матки (путем, например, экстракорпорального оплодотворения получают несколько зародышей, развитие которых до стадии бластоцисты происходит «в пробирке»; единичные клетки таких зародышей помещают в культуру с питательной средой, где их количество, так как они размножаются, увеличивается настолько, что, используя цитогенетический, молекулярно-цитогенетический, биохимические, иммунологические методы, молекулярно-генетические и

Источник KingMed.info

геномные технологии ДНК-диагностики - см. пп. 5.2.2.3, 5.2.2.3-б, в, г, 5.2.2.5, 5.2.2.6, проводят анализ кариотипа и генома (генотипа) на предмет выявления генотипически «полноценного» эмбриона, который и будет имплантирован), **до родов** - в период внутриутробного развития (получая для медико-генетического исследования клеточный материал зародыша путем **биопсии плаценты** или **ворсин хориона**, пункции кровеносных сосудов пуповины - **кордоцентез**, из околоплодной жидкости путем **амниоцентеза**, см. п. 5.2.2.4) или же используя такие диагностические методы, как **фетоскопия, УЗИ**. На использовании ультразвуковой дородовой диагностики (УЗИ или ультразвуковое исследование плода) пороков развития остановимся особо. В настоящее время это единственный повсеместно применяемый в акушерской практике современный неинвазивный (см. п. 5.2.2.3-а) метод. Его можно осуществлять фактически на любом сроке беременности - с 6-8-й до 30-32-й недели. Попытки использовать такие неинвазивные методы лучевой диагностики, как радио- и рентгенография, имели место в прошлом, но не нашли широкого применения. Современные неинвазивные томографические технологии, например магнитно-резонансная томография (МРТ), в силу технических обстоятельств (относительно медленное формирование изображения при высокой двигательной активности плода) не гарантируют требуемой определенности результата. Метод фетоскопии (инвазивный) заключается в осмотре плода с помощью оптической системы - зонда, вводимого в амниотическую полость. В настоящее время применяется по особым показаниям, во-первых, в силу высокой вероятности осложнений (7-8% фетоскопий приводят к выкидышу) и, во-вторых, в силу того, что почти все врожденные пороки развития, выявляемые методом фетоскопии, диагностируются с помощью УЗИ. Дородовое МГК рекомендуется проводить не позднее 20-22-й недели беременности. В указанные сроки, если принимается решение о «нецелесообразности» продолжения беременности по медико-генетическим основаниям, плод нежизнеспособен, и осуществляемые в таких случаях преждевременные роды психологически воспринимаются более спокойно.

Практикуется также **перинатальное МГК**, заключающееся в проведении непосредственно после рождения или в раннем перинатальном периоде (первая неделя после рождения) **просеивающей диагностики** с целью выявления определенных наследственных заболеваний. Разработка и применение технологий перинатального МГК стимулируется возможностью при некоторых наследственных патологиях блокировать развитие патологического фенотипа (т.е. генетического заболевания) путем организации профилактических мероприятий.

Так, в целях ранней диагностики фенилкетонурии на 3-5-й день после рождения в роддоме готовят образцы пятен капиллярной крови младенцев, высушенные на хроматографической или фильтровальной бумаге. Эти образцы доставляют в специализированную биохимическую лабораторию (их можно пересылать по почте), где определяют концентрацию аминокислоты фенилаланина (количественный высокоинформативный тест). В случае обнаружения гиперфенилаланинемии у врачей возникает настороженность. При последующем подтверждении диагноза фенилкетонурии и уточнении, в частности, с использованием методов ДНК-диагностики (см. п. 5.2.2.3-в) характера генетического дефекта (болеют рецессивные гомозиготы по мутациям гена *PAH* фермента фенилаланингидроксилазы - *12q22-q24.2*; из более чем 200 известных мутаций в России и в восточноевропейских странах распространена *R408W* - изменение в 12 экзоне гена 1 п.н., что приводит к замене в 408-м положении аминокислоты аргинина на аминокислоту триптофан) ребенок переводится на искусственную безфенилаланиновую диету. Дело в том, что при отсутствии активности фенилаланингидроксилазы нарушается обмен поступающего с пищей фенилаланина, что

Источник KingMed.info

приводит к накоплению аминокислоты и продуктов побочных реакций метаболизма с ее участием - фенилпировиноградная, фенилуксусная и фенил-молочная кислоты - прежде всего в головном мозге. В таких условиях страдает процесс умственного развития (еще одно название болезни - фенилпировиноградная олигофрения). Если перевод младенца на требуемую диету происходит в первые недели жизни, то болезнь не развивается. Перинатальное (т.е. раннее) МГК в описанном случае важно потому, что при отсутствии специфических профилактических мер (без-фенилаланиновая диета) первые клинические проявления заболевания обнаруживаются уже спустя 2-3 нед после рождения, а к 6-месячному возрасту дефицит умственного развития становится необратимым. По достижении ребенком возраста 11-12 лет диету расширяют и делают более разнообразной без угрозы нарушений в умственном развитии. О том, что новорожденный несет соответствующий генетический дефект и болен фенилкетонурией, говорит специфический (мышиный) запах мочи новорожденного или приобретение ею зеленого окрашивания при добавлении треххлорного железа - проба Фёллинга (оба теста качественные).

Ретроспективное МГК проводится в отношении семей, уже имеющих ребенка с заболеванием генетической природы (пробанд), с целью определения риска рождения детей с наследственной патологией в будущем.

Необходимость медико-генетического прогноза связана с тем, что гено(аллело)фонды популяций людей отягощены **генетическим грузом**, который определяется как некоторая (обычно меньшая) часть членов популяции, имеющая измененную наследственность, в результате чего в каждом поколении рождаются люди с наследственной патологией. Такие люди отличаются пониженной жизнеспособностью и поэтому подвергаются избирательной гибели в процессе естественного (стабилизирующего) отбора. Вместе с тем некоторые из них доживают до репродуктивного возраста и оставляют потомство, как правило, также с измененной наследственностью. Свой вклад в суммарный объем генетического груза вносят гетерозиготы-носители «проблемных» патогенных аллелей. Такие гетерозиготы сами обычно генетически здоровы, так как в дополнение к рецессивному патогенному аллелю они имеют нормальный доминантный аллель дикого типа. Известны лица-гетерозиготы, у которых патогенный аллель доминантен. В силу дозированнойности действия генов при многих наследственных патологиях с доминантным аутосомным или доминантным Х-сцепленным типом наследования гетерозиготы тоже страдают генетическим заболеванием, но, в сравнении с доминантными гомозиготами (которые нередко нежизнеспособны), в легкой форме.

По степени нарушения здоровья различают несколько вариантов генетического груза. Генетический груз характеризуют как **незначительный**, если вызываемые им отклонения в здоровье снижают жизнеспособность индивида в малой степени - дальтонизм (цветовая слепота). В таких случаях определяемое генетическим грузом нарушение здоровья обычно **проявляет себя на протяжении всей жизни человека**. При некоторых наследственных заболеваниях вклад генетического груза в нарушение здоровья и снижение жизнеспособности оценивают как весомый, причем неблагоприятное влияние этого груза на состояние здоровья наблюдается **на протяжении достаточно длительного отрезка жизни** человека, делая его инвалидом - псевдогипертрофическая мышечная дистрофия Дюшена (моногенное наследственное заболевание, мутация в 23-м экзоне гена мышечного белка дистрофина - *Хр21.2*, фенотипически проявляется в неуклонно прогрессирующей мышечной слабости с распространением на все большее число скелетных мышц; болезнь начинается с неуверенной походки обычно в первые три года жизни, к 10-11 годам дети нередко уже прикованы к постели, средняя продолжительность жизни порядка 20 лет). Есть заболевания, при которых патогенетическое действие генетического груза является **весомым**, но появление клинически

Источник KingMed.info

значимых фенотипических признаков и, следовательно, **начало болезни** как таковой **отсрочены** по возрасту - хорея Гентингтона (моногенное заболевание, мутация в гене белка гентингтина с неустановленной функцией - *4p16.3*; фенотипически проявляется в образовании амилоидоподобных бляшек с исходом в гибель нервных клеток стриопаллидарной системы головного мозга; характерен комплекс клинических проявлений в виде гиперкинезов, слабоумия и психических нарушений, оформляющийся в типичных случаях на 4-5-м десятилетии жизни человека). Генетический груз оценивают как **интенсивный**, если он обуславливает появление признаков болезни в раннем детстве, тяжесть и быстрое нарастание степени выраженности клинических симптомов, раннюю смерть - амавротическая идиотия или болезнь Тея-Сакса (моногенное наследственное заболевание обмена веществ, мутация в локусе *15q22.4*; фенотипически проявляется в функциональной недостаточности лизосомального фермента гексоаминидазы А, что приводит к накоплению, в частности, в головном мозге *Gm2-ганглиозида* с исходом в генерализованную гибель нервных клеток и демиелинизацию, в замещение нервных структур нейроглией; клинические проявления регистрируются обычно на 4-5-м месяце жизни, быстро прогрессируют и, достигнув максимальной степени выраженности в виде функциональных расстройств, связанных с поражением жизненно важных нервных центров продолговатого мозга и фактической декортикацией большого, глухоты, слепоты, полной обездвиженности, трофических нарушений, кахексии, приводят к смерти ребенка обычно в возрасте 3-4 лет). В таких случаях действие генетического груза **относительно кратковременно**.

Благодаря наличию **генетического груза** существует **генетический риск** развития у потомства с известной вероятностью определенной **наследственной патологии**. Величина генетического риска рассчитывается тем или иным из существующих методов. Выбор метода в немалой степени определяется типом наследования и рядом других характеристик наследственной патологии, по которой готовится **медико-генетический прогноз**. Так, учитывают, является ли заболевание моногенным, хромосомным или мультифакторным, а также информацию о пенетрантности и экспрессивности «проблемного» гена, о наличии генокопий, фенокопий, о генетической гетерогенности. Генетический риск в своем количественном выражении - величина переменная. Так, в браках гетерозигот-носителей патологических аллелей риск рождения ребенка с аутосомно-рецессивным или аутосомно-доминантным наследственным заболеванием равен 25 и 50% соответственно.

Риск рождения генетически «проблемного» по состоянию здоровья ребенка не выше 5% оценивается как **низкий**, до 10% - как **повышенный**, до 20% - как **средний** и свыше 20% - как **высокий**.

Исходя из величины генетического риска, **формулируется медико-генетический прогноз**, и путем **соотносительной оценки «пользы»** (рождается здоровый ребенок) и **«потерь»** (рождается больной ребенок) определяется **цена**, которую должны будут заплатить родители в случае появления на свет генетически «проблемного» потомства. Исключительное право на **окончательное решение принадлежит родителям**, тогда как в функцию сотрудника медико-генетической консультации (здесь - медицинское учреждение) входит в доступной форме **объяснить** им **медицинские последствия** конкретной генетической ситуации.

В общении с консультируемыми врачу-генетику приходится учитывать целый ряд обстоятельств, различающихся от ситуации к ситуации. Так, в браках гетерозигот-носителей рецессивных патологических (патогенных) аллелей риск рождения ребенка с генетическим заболеванием в 25% соответствует максимальному. На самом деле у таких родительских пар, причем с вероятностью в 75%, рождаются здоровые дети. Необходимо, следовательно, говорить о диапазоне риска от 0 до 25%. Риск рождения генетически «проблемного» ребенка у

гетерозиготных родителей-носителей патогенных рецессивных аллелей в диапазоне от 0% до 25% характеризует каждую отдельную беременность и не зависит от того, какой ребенок - больной или здоровый - был рожден ранее. Необходимо учитывать возраст родителей. Так, у женщин в возрасте 35 лет и старше увеличен риск рождения ребенка с болезнью Дауна (трисомия по хромосоме 21). Повышение риска рождения потомства с определенной наследственной патологией по мере увеличения возраста родителей, включая отцов, предполагается для ряда болезней, в том числе моногенной природы. По мере увеличения возраста отца растет, например, вероятность рождения ребенка с ахондроплазией (описаны разные формы заболевания с локализацией мутантных генов - *4p14-p16*, *Xq28*, *Xp22.32*). Причину роста генетического риска с увеличением возраста родителей многие врачи-генетики видят в явлении «перезревания гамет»: появление и накопление в гаметах (и женских, и мужских) изменений за отрезок времени между их созреванием и моментом оплодотворения. Предположительно чем длиннее названный отрезок, тем ниже вероятность физиологического оплодотворения и тем выше частота аномалий развития, в частности, генетической природы. Также предположительно факт «перезревания» половых клеток связывают с десинхронизацией процессов овуляции (разрыв зрелого граафова фолликула в яичнике женщины детородного возраста с выбросом в брюшную полость яйцеклетки) и оплодотворения. Причины такой десинхронизации разнообразны: гормональные изменения в пременопаузальном периоде жизни женщины, сниженная, возможно, вследствие имевшего место воспаления, проходимость маточных труб, приводящая к задержке продвижения яйцеклетки и сперматозоидов навстречу друг другу, пониженная двигательная активность спермиев.

Описаны случаи, когда наличие в семье больного (в частности, эпилепсией) ребенка повышает риск рождения в последующих беременностях потомства с другой генетической патологией - гемофилией.

При неблагоприятном медико-генетическом прогнозе, если риск появления на свет больного ребенка оценивается как высокий, а рождение ребенка рассматривается как безусловный семейный интерес, ставится вопрос о необходимости пренатальной (или даже предимплантационной) оценки генетической конституции зачатого и/или осуществляющего развитие ребенка.

5.2.2.8-а. Генетический груз как биомедицинское явление: популяционный и индивидуально-семейный аспекты. Евгеника в исторический период молекулярно-генетических и геномных технологий

Выше необходимость МГК связывалась с наличием популяционного генетического груза. Такой груз в гено(аллело)фондах популяций (групп) людей есть. Вместе с тем выше в примерах наследственных болезней, иллюстрирующих неблагоприятное действие популяционного генетического груза, речь шла о снижении жизнеспособности и нарушениях здоровья отдельных лиц, что требует пояснения. В своем конкретном выражении популяционный генетический груз проявляется в снижении уровня здоровья некоторого числа членов популяции в связи с функционально-генетической «дефектностью» их генотипов. Количество пораженных и характер наследственной патологии от популяции к популяции различаются. Так, в большинстве человеческих популяций один пациент, страдающий болезнью Тея-Сакса, приходится на 360 000 населения, тогда как среди евреев-ашкенази один такой пациент приходится в среднем на 3600 человек. Среди евреев-ашкенази родом из Польши или Литвы один пациент с болезнью Тея-Сакса приходится на 5000 человек. Известны человеческие популяции, в которых регистрируется сверхвысокая частота обнаружения лиц с определенным наследственным дефектом. Так, в некоторых этнических группах один мужчина с недостаточностью эритроцитарного фермента

Источник KingMed.info

глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, ГбФД (признак X-сцепленный, Xq28) приходится на каждые 4-20 лиц мужского пола. Таким образом, генетический груз можно определить как вероятность появления конкретной наследственной патологии у обратившегося за консультацией или у его потомков (**индивидуально-семейный аспект**). При этом человек, обращающийся за медико-генетической консультацией, является членом конкретной популяции людей (**популяционный аспект**), что обязательно принимается в расчет.

Наличие индивидуально-семейного и популяционного аспектов требует корректного отношения к определению стратегических задач, которые ставятся перед МГК как одним из видов специализированной медицинской помощи населению. С одной стороны, такая задача может состоять в снижении риска или недопущении рождения определенным лицом и/или в конкретной семье генетически «проблемного» ребенка. С другой стороны, речь может идти о генетическом оздоровлении населения страны или региона, отдельных популяций или групп населения, человечества в целом.

Первая из названных выше задач решается. Конкретные меры, предпринимаемые для ее решения, различны. В одних случаях используют методы **пассивной (первичной)** - предупреждение зачатия больного ребенка или **вторичной** - прерывание беременности по медико-генетическим показаниям) **профилактики появления лиц с наследственной патологией**, такие, как отказ от близкородственных браков или браков гетерозиготных носителей, исключение наступления нежелательной беременности путем отказа от деторождения вообще и/или ограничение деторождения возрастом 30-35 лет, прерывание беременности по результатам дородовой диагностики, исключение имплантации «проблемных» бластоцист по результатам доимплантацион-ной диагностики. Перечисленные выше методы могут быть сведены в группу под общим названием - **планирование семьи**. Первичная профилактика включает также мероприятия по **улучшению среды жизни человека**: жесткий контроль присутствия и концентрации в среде мутагенов и тератогенов. Необходимость такого контроля вытекает из данных расчетов, свидетельствующих о том, что порядка 20% наследственных болезней в каждом поколении людей обусловлены новыми мутациями.

В других случаях применяют методы **активной (третичной)** или **нормокопирования**, если речь идет о заболеваниях строго генетической природы) **профилактики появления лиц с наследственной** или **мультифакторной патологией**, такие, как исключение из среды жизни провоцирующих или «разрешающих» патогенных факторов с целью при «проблемном» генотипе получить нормальный фенотип, путем, например, перевода ребенка на безфенилаланиновую диету - см. здесь же, выше. Суть данного подхода, по мнению ряда генетиков, состоит в **управлении экспрессией генов**. Возможность активно формировать хорошие качества, исправлять или не допускать генетически обусловленных патологических проявлений у людей путем изменения условий среды жизни (диета, лекарства, воспитание и др.) в середине 20-х годов XX в. обосновывал Н.К. Кольцов, опираясь на открытия классической генетики своего времени (была установлена зависимость фенотипического проявления генов от характеристик генотипической и внешней среды, в профессиональный генетический обиход вошли понятия экспрессивности и пенетрантности, специфичности действия генов). Для обозначения указанного подхода он предложил термин **«евфеника»**. Введением этого термина подчеркивалась принципиальная разница между двумя научно-практическими подходами к решению проблемы генетического оздоровления людей - евгеникой и евфеникой. Это было принципиально важным и своевременным, так как в некоторых странах, исходя из евгенической идеологии того исторического периода, предпринимались практические шаги (включая принятие соответствующих законов), ведущие к насильственному ограничению деторождения

Источник KingMed.info

представителями некоторых категорий граждан, к примеру, страдающих наследственными, психическими и рядом других заболеваний или же принадлежащих к определенным социальным группам.

Перспективы решения второй из названных выше стратегических задач оцениваются в свете достижений молекулярной генетики, клеточной биологии и биотехнологии как реальные, но неопределенные по времени. Они зависят от успехов научно-практических разработок в таких областях, как геновая и клеточно-тканевая инженерия, нанобио-медицинские технологии.

В случае **генной инженерии** речь идет о создании **биотехнологических конструкций**, содержащих необходимую для обеспечения **генотерапевтического эффекта** генетическую информацию (другими словами, требуемый ген, выделенный из клеток генетически здорового субъекта или синтезированный в лаборатории), о введении таких конструкций в организм пациента с наследственным заболеванием и о функциональной активации (актуализации) введенного генетического материала. Проблема введения биотехнологической конструкции решается разными способами. В одних протоколах используют так называемые векторы (проводники), функцию которых обычно выполняет специально подготовленная ДНК, в других протоколах - клетки пациента в условиях *ex vivo* (то есть вне организма) генетически модифицируют, удаляя патогенный аллель - технология «*knock out*» или вводя требуемый аллель - технология «*knock in*», после чего эти клетки возвращают в организм больного. На сегодняшний день в мире прошло апробацию (в испытаниях приняли участие порядка 750 пациентов; объекты **генотерапии** - тяжелые комбинированные иммунодефициты, муковисцидоз, миодистрофия Дюшена, семейная гиперхолестеринемия, онкологические заболевания) и утверждение более 150 генотерапевтических протоколов. Поставлен, но еще ждет своего решения в отношении человека вопрос о «терапии зародышевого пути как такового», т.е. о технологиях, которые позволили бы исключить или резко снизить образование генетически «проблемных» половых клеток. Еще одно направление генной инженерии - получение антисмысловых олигонуклеотидов из 15-20 мономеров, способных благодаря комплементарному (высокоизбирательному) взаимодействию соединяться с ДНК патогенных аллелей человека и блокировать их экспрессию - **антисмысловая генотерапия**.

Клеточно-тканевая инженерия представляет собой основу регенеративной медицины (см. п. 3.2) и состоит в приготовлении из стволовых клеток и/или их производных клеточного трансплантата (клеточного продукта). Трансплантат (продукт) вводится в организм пациента, вызывая положительный терапевтический эффект. Названный эффект может быть следствием замещения собственных функционально «дефектных» клеток больного функционально полноценными клетками трансплантата (опыт гематологии: анемия Фанхони) либо вводимые пациенту стволовые и/или прогениторные (предшественники) клетки стимулируют собственные клетки, которые обеспечивают восстановление дефицита функции.

Используемые современной медицинской генетикой подходы и методы можно разделить на две группы. В одну из них включаются манипуляции, позитивный эффект которых сопряжен с удалением из гено(аллело)фонда «проблемного» патогенного аллеля (запрет на определенные категории браков и деторождение, прерывание беременности по медико-генетическим показаниям, зачатие в пробирке с выбором для имплантации генетически «беспроблемной» бластоцисты, некоторые варианты генетической модификации клеток), в другую - манипуляции, позитивный эффект которых распространяется на фенотип, тогда как патогенный аллель остается в гено(аллело)фонде и, следовательно, может быть унаследован потомством (методы активной профилактики, направленные на изменение в требуемом направлении условий среды

жизни, антисмысловая генотерапия). Методы, относящиеся к первой группе, в плане решения задачи генетического оздоровления людей более радикальны, так как действуют и на индивидуально-семейном, и на популяционном уровне. Вместе с тем именно они вызывают серьезные возражения по соображениям разной природы - этическим, религиозным, этническим и др. Узаконенное их применение многими рассматривается как действие, связанное с нарушением прав человека. Методы, относящиеся ко второй группе, вызывают меньше споров и критики, так как они не нарушают установленных природой генетических (биоинформационных) отношений между поколениями. Предложение о целесообразности их применения обычно исходит от врача.

Расширение круга манипуляций с наследственным материалом человека послужило основанием к оживлению евгенической идеи. Необходимость усилий, направленных на генетическое оздоровление человечества, **евгеники XXI в.** связывают с ответственностью ныне живущих людей перед людьми будущих поколений. Особое внимание в этом плане привлекают такие технологии, как экстракорпоральное оплодотворение и клонирование, а также развитие функциональной геномики. Достижения последней помогут оптимизировать создание геномно-протеомных портретов (или паспортов) людей. Дело в том, что, хотя порядок следования пар нуклеотидов в ДНК всех хромосом человека установлен, знания о функционировании подавляющего большинства сайтов ДНК отсутствуют или недостаточны. Усовершенствованные технологии экстракорпорального оплодотворения и доимплантационной диагностики наследственной патологии, а также клонирования дадут, по мнению современных евгеников, возможность отказаться от главного постулата **негативной евгеники** начала минувшего столетия - добиваться генетического оздоровления людей путем регулируемого снижения рождаемости среди генетически менее удачных и ориентироваться на постулат **позитивной евгеники** - добиваться генетического оздоровления людей путем регулируемого повышения рождаемости у тех, кто наделен генетическими преимуществами. Одним из практических следствий таких представлений было, в частности, создание банка спермы нобелевских лауреатов. При этом замалчивается известный факт существования людей (иногда их называют гениями-идиотами), которые с трудом справляются с элементарными каждодневными жизненными задачами, будучи в то же время выдающимися музыкантами, скульпторами или же обладая способностью со скоростью калькулятора перемножать в уме многозначные цифры. Можно заключить, что у этих людей отдельный дар не компенсирует недостатка остальных способностей. Вместе с тем в науке о человеке существует понятие **«общее умственное развитие»**.

Вопросы для самоконтроля

1. В чем состоят особенности человека как объекта генетики?
2. Какие методы используются в антропогенетике, и в чем их суть?
3. Перечислите особенности родословных при различных типах моногенного наследования.
4. Что такое медико-генетическое консультирование, и каковы его задачи?

Раздел IV. ОРГАНИЗМЕННЫЙ ИЛИ ОНТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ УРОВЕНЬ ОРГАНИЗАЦИИ ЖИЗНИ

Элементарной единицей **организменного** или более точно **онтогенетического уровня** является **особь**, рассматриваемая во времени, т.е. как ее (особи) **онтогенез**. Будучи зачатым и став организмом очередного поколения на одноклеточной (зигота) стадии онтогенеза, новый организм начинает свое индивидуальное развитие. Пройдя ряд закономерных последовательных состояний, этот организм, в любом из указанных состояний оставаясь самим собой, становится биологически взрослым половозрелым существом, готовым к выполнению главной биологической функции - участию в репродуктивных процессах для создания особей следующего поколения. Для биосоциального и одухотворенного существа человека достижение состояния взрослости означает не только готовность к участию в репродукции, но также способность к трудовой созидательной деятельности, к выполнению своих общественных и гражданских функций.

Закономерные **видоспецифичные изменения особи (организма) в продуктивную (созидательную) фазу индивидуального развития**, приходящуюся у людей по времени на внутриутробный и ранний постнатальный (детство, отрочество, юность) периоды развития, составляют элементарное явление рассматриваемого уровня. В части биологической составляющей онтогенеза человека, так же как и других животных, эти изменения обеспечивают рост организма, дифференциацию его частей (образование тканей и органов) и одновременно интеграцию развития в целостный процесс, структурно-цитохимически-функциональную специализацию (дифференцировку) клеток, у многоклеточных регуляцию количества клеток определенного цитотипа (направления дифференцировки). Специфическим для человека является то, что он рождается, готовым к мыслительной и трудовой деятельности, способным быть членом общества и гражданином.

Благодаря онтогенезу, происходящему в определенных условиях среды, наследственная информация воплощается в структуры и процессы. На основе **генотипа** формируется **фенотип** особи данного биологического вида. Так как естественный отбор происходит в живой природе по фенотипам, именно в развитии особи видоспецифического фенотипа заключается главное эволюционно значимое событие организменного или онтогенетического уровня.

Если иметь в виду вещественно-энергетическое и биоинформационное обеспечение онтогенеза особи, то следует сделать оговорку, что оно начинается до момента оплодотворения и образования зиготы и связано главным образом с женской половой клеткой. Последняя в ходе гаметогенеза (овогенеза) приобретает некоторые характеристики, которые будут использованы не ею самой, а начавшей индивидуальное развитие особью нового поколения. Одна из таких характеристик, пожалуй, наиболее известная, - образование в цитоплазме яйцеклетки большего или меньшего в зависимости от вида животного количества желтка, который используется как питательный материал в процессе развития потомка. Функционально-генетическая активность ряда генов, проявляющаяся в их транскрипции и пост(после)транскрипционных изменениях первичного и(м)РНК транскрипта, во времени отнесена также к периоду до оплодотворения. Образующиеся вследствие названной активности и(м)РНК организуют синтез важных для ранних стадий эмбриогенеза белков. Совокупность событий, происходящих в ово(оо)генезе, но в интересах процесса индивидуального развития нового организма, составляет содержание **периода прогенеза - предзароды-шевого периода индивидуального развития**.

Источник KingMed.info

Среди живых существ человеку принадлежит лидирующее место по степени изученности фенотипа. Соответствующие знания студенты-медики получают, изучая анатомию, гистологию, биохимию, биофизику, физиологию и другие дисциплины естественно-научного блока. Подавляющее большинство этих знаний характеризует среднестатистического взрослого человека - мужчину и женщину. Благодаря наличию в здравоохранении педиатрического сектора оформился самостоятельный блок знаний, характеризующий детей разного возраста. В самое последнее время, в связи с ростом на планете количества лиц продвинутого возраста - пожилых, старых, долгожителей, осознается необходимость формирования блока знаний, характеризующих представителей этой возрастной группы населения, и обособления в здравоохранении специального геронтологически-гериатрического сектора. С биологической и особенно с биомедицинской точки зрения целостное представление о человеке как о живом существе может дать только знание его онтогенеза. Поэтому в курсе биологии для студентов медицинских вузов соответствующий уровень организации жизни целесообразно воспринимать именно как онтогенетический. Этим последним и определяется в основном содержание настоящего раздела учебника.

Глава 6

РАЗМНОЖЕНИЕ В ЖИВОЙ ПРИРОДЕ

Среди фундаментальных свойств и проявлений земной жизни **размножению** принадлежит особое место (см. пп. 1.1 и 1.3). Действительно, смысл существования живого существа - выполнение им главной биологической функции: участие в процессе размножения. Основу функции размножения составляют определенные клетки (гаметы) и клеточные процессы.

Так как длительность жизни особи всегда короче продолжительности существования вида, к которому эта особь принадлежит, то история любого биологического вида заключается в истории сменяющих друг друга поколений организмов. Очередное или дочернее поколение образуется вследствие размножения представителей материнского поколения. Можно сказать, что благодаря размножению биологические виды а следовательно, и жизнь как явление материального мира сохраняются во времени.

Фенотипические различия, наблюдаемые среди особей разных поколений, представляют собой материал для естественного отбора, без чего эволюция живых форм и жизни в целом невозможна.

Размножение возникло в ходе исторического развития органического мира планеты рано, предположительно одновременно с (прото) клеткой. **Размножение** в мире жизни, наряду со **сменой поколений** и **поддержанием на определенном уровне внутривидовой изменчивости**, решает также задачи **увеличения количества особей** и **сохранения** путем «воспроизведения себе подобных» возникающих в эволюции **типов и вариантов структурно-физиологической организации**. Последнее обусловлено тем, что процесс биологического размножения предусматривает передачу в ряду поколений наследственного материала (ДНК) и, таким образом, специфической для конкретного вида биологической (генетической) информации.

6.1. способы и формы размножения

Способы и формы биологического размножения определяются характеристиками клеточного материала, который используется для размножения, а также рядом других обстоятельств (табл. 6.1). Выделяют **бесполое** и **половое** размножение.

Таблица 6.1. Сравнительная характеристика бесполого и полового размножения

Показатель	Способ размножения	
	Бесполое	Половое
Клеточные источники наследственной информации для развития потомка	Многоклеточные: одна или несколько соматических (телесных) клеток родителя. Одноклеточные: клетка - организм как целое	Родители образуют половые клетки (гаметы), специализированные к выполнению функции размножения. Родитель представлен в потомке исходно одной клеткой
Родители	Одна особь	Как правило, две особи
Потомство	Генетически точная копия родителя при отсутствии соматических мутаций, т.е. клон организмов	Генетически отличное от обоих родителей
Главный клеточный механизм	Митоз	Мейоз
Эволюционное значение	Поддержание максимальной приспособленности в мало меняющихся условиях обитания. Усиливает роль стабилизирующего естественного отбора	За счет генетического разнообразия создает предпосылки к освоению разнообразных условий обитания (эволюционная и экологическая пластичность). Усиливает творческую роль естественного отбора

6.2. бесполое размножение

Типичные формы бесполого размножения приведены на рис. 6.1.

Деление надвое приводит к образованию из одного материнского организма двух дочерних. Такая форма размножения преобладает у прокариот и простейших одноклеточных, но встречается и у многоклеточных, например, **продольное** - у медуз и **поперечное** - у кольчатых червей.

Множественное деление или **шизогония** наблюдается у простейших, в том числе паразитов человека (малярийный плазмодий).

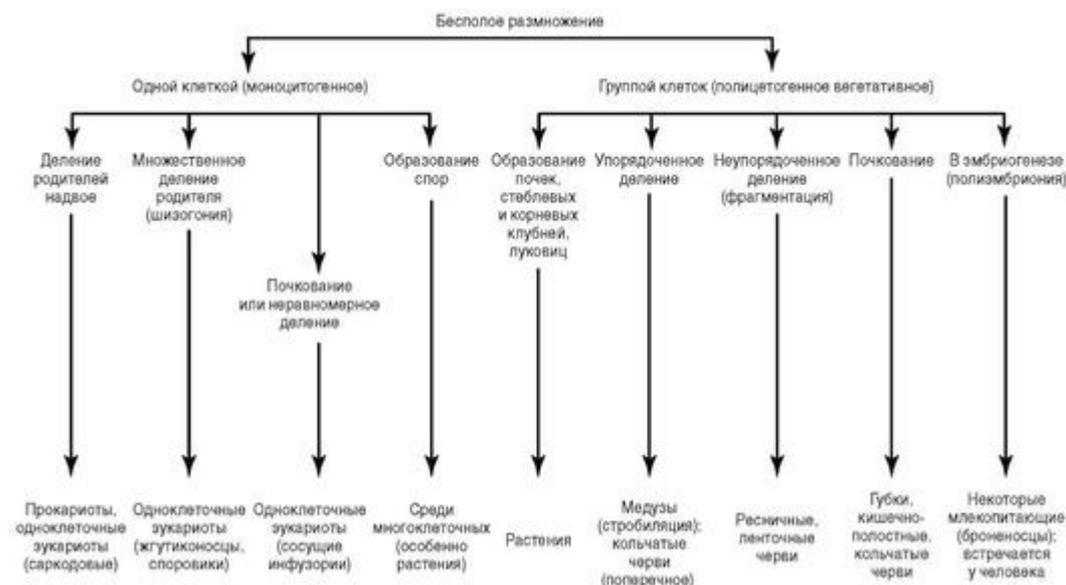


Рис. 6.1. Формы бесполого размножения

При размножении **почкованием** потомок первоначально формируется как вырост на теле родителя с последующей отшнуровкой - гидра.

Такая форма как **фрагментация** состоит в распаде тела многоклеточного организма на части, которые затем превращаются в самостоятельных особей - плоских червей, иглокожих.

У видов, размножающихся **спорами**, дочерняя особь развивается из специализированной клетки-споры.

Если при бесполом способе размножения клеточные источники наследственной информации для развития потомка представлены не одной, а несколькими или многими клетками родителя, говорят о **вегетативном** бесполом размножении. Оно распространено среди растений.

Бесполое размножение типично для организмов с относительно низким уровнем структурно-функциональной организации, среди которых встречается немало паразитов человека.

У **паразитов** бесполое размножение служит не только решению задачи **увеличения численности особей**, но **способствует расселению**, помогает **пережить периоды существования в неблагоприятных условиях**.

Интересен способ, который по всем формальным признакам следует рассматривать как бесполое размножение, но сопряженное с процессом полового размножения - **полиэмбриония** (см. п. 6.3 и табл. 6.1).

6.3. половое размножение

Половое размножение, возникнув эволюционно позже бесполого, существует в природе тем не менее более 3 млрд лет. Оно обнаруживается в жизненных циклах представителей всех основных групп организмов. Эволюционный консерватизм и распространенность среди живых форм полового размножения имеет свои причины. Важнейшая из них - то, что оно обеспечивает значительное **генетическое разнообразие** особей в каждом поколении и, следовательно, высокий уровень **фенотипической изменчивости** потомства, благодаря чему решается задача эволюционной (сохранение жизни, пусть в измененных формах, во времени на фоне меняющихся жизненных условий) и экологической (расселение в разные среды, освоение разнообразных экологических ниш) пластичности живых существ.

Основу полового размножения составляет **половой процесс**. Суть его сводится к объединению в генетическом (биоинформационном) материале для развития потомка генетического материала из двух разных источников, каковыми являются родители - самка и самец (мать и отец) или просто две особи, как это происходит у одноклеточных организмов. Представление о половом процессе дает явление **конъюгации**, в частности, у инфузорий, которая состоит во временном соединении путем образования «мостика» двух особей (родители) для обмена (**рекомбинация**) наследственным материалом. В итоге возникают две особи, генетически отличные друг от друга и от каждого из родителей. Эти особи затем размножаются бесполом путем (деление). Число инфузорий после завершения конъюгации не меняется, так что говорить о размножении в прямом смысле в этом случае нет оснований. **Две задачи** - использование феномена комбинативной генотипической изменчивости (**половой процесс**) для создания наследственного (биоинформационного) разнообразия среди потомков и увеличение числа особей (**бесполое размножение**) **решаются путем сочетания двух разных способов**. Напомним, что в обмене генетическим материалом у инфузорий участвуют микронуклеусы (см. п. 2.3).

У некоторых простейших половой процесс осуществляется в виде **копуляции**. В этом случае две особи (родители) соединяются в одну с объединением генетического (биоинформационного) материала и процессом рекомбинации. В дальнейшем такая особь вступает в фазу собственно размножения путем деления (бесполое размножение).

На определенном этапе эволюции (у многоклеточных) половой процесс как способ обмена генетической информацией между особями вида и, таким образом, увеличения наследственного и, следовательно, фенотипического разнообразия потомства оказался сопряженным с размножением как способом увеличения числа особей вида.

Необходимое условие полового размножения заключается в образовании родительскими особями (самкой и самцом, матерью и отцом) гамет (женских и мужских) - **половых клеток**, специализированных для выполнения генеративной функции (см. п. 6.4). Еще одна типичная характеристика полового размножения заключается в явлении **оплодотворения** - в слиянии материнской и отцовской гамет с образованием **зиготы** - клетки, представляющей собой дочернюю особь (потомка) на начальной одноклеточной, наиболее ранней, стадии индивидуального развития.

Есть виды организмов, у которых образование зиготы происходит путем слияния гамет, не отличимых по строению. У большинства видов, однако, по размерам, структурным, цитохимическим и цитофунк-циональным признакам гаметы делятся на женские или материнские (**яйцеклетки**) и мужские или отцовские (**сперматозоиды, спермии**).

Источник KingMed.info

Как правило, яйцеклетки и сперматозоиды образуются разными особями - женскими (**самки**) и мужскими (**самцы**). В подразделении гамет на яйцеклетки и сперматозоиды (см. рис. 4.46), а особей на самок и самцов (см. рис. 4.48) состоит явление **полового диморфизма**. Наличие его в природе отражает различия в тех специфических задачах, которые в процессе полового размножения решают женские и мужские гаметы, самки и самцы.

Образование половых клеток обоих видов одним организмом, имеющим одновременно женские и мужские половые железы, - явление **истинного гермафродитизма**¹.

Истинный гермафродитизм типичен для некоторых паразитов человека, например плоских червей. Хотя истинные гермафродиты производят оба типа гамет - женские и мужские, - самооплодотворения у них, как правило, не наблюдается. Обычная причина этого - несовпадение во времени созревания яйцеклеток и сперматозоидов.

Истинный гермафродитизм встречается у человека. Чаще он является результатом нарушения эмбриогенеза при одинаковой паре половых хромосом (либо XX, либо XY) во всех соматических клетках. У ряда людей-гермафродитов наблюдается мозаицизм по половым хромосомам: одна часть соматических клеток имеет пару XX, тогда как другая - XY.

Хотя оплодотворение представляет собой характерный признак полового размножения, дочерняя особь иногда развивается из неоплодотворенной яйцеклетки

- **партеногенез** или **девственное развитие** (от греч. *parthenos* - девственница, *genos* - рождение). Источником наследственного материала для развития потомка обычно бывает ДНК яйцеклетки - **гиногенез**. Реже наблюдается партеногенетическое развитие из клетки с цитоплазмой от яйцеклетки и ядром от сперматозоида - **андрогенез**. Существуют виды организмов, у которых все образующиеся яйцеклетки способны как к развитию с их оплодотворением сперматозоидом, так и к партеногенезу - **факультативный партеногенез**. В природе девственное развитие встречается среди растений, червей, насекомых, ракообразных - **естественный партеногенез**. Есть виды (кавказская скальная ящерица), размножающиеся исключительно пар-теногенетически - **облигатный** или **обязательный партеногенез**.

¹ От истинного гермафродитизма следует отличать ложный гермафродитизм, для которого характерно сочетание у одного организма наружных половых органов и вторичных половых признаков обоих полов при наличии половой железы одного типа - женской или мужской (яичника или семенника).

Партеногенез как способ размножения путем образования многочисленного потомства, причем в отсутствие партнеров для спаривания, помогает решить задачу компенсации массивной гибели (часто неспецифической) организмов некоторых видов. Именно поэтому он распространен среди паразитов.

К девственному развитию яйцеклетку можно побудить в лабораторных условиях - **искусственный партеногенез**.

Исследования, выполненные на ранних эмбрионах человека, полученных путем экстракорпорального оплодотворения, показали, что развитие человека возможно только при наличии оплодотворения, т.е. в зиготе должны быть оба генома - материнский и отцовский. В отсутствие отцовского генома не образуются провизорные органы, и, следовательно, возникающий материал внутренней клеточной массы (эмбриобласт, согласно прежней эмбриологической терминологии) лишен возможности нормально развиваться. В таких случаях (дигиногенез - в диплоидных клетках оба генома материнские) обычно развитие приводит к образованию тератом, что равнозначно прекращению развития и гибели зародыша. В отсутствие

Источник KingMed.info

материнского генома (диандрогенез - в диплоидных клетках оба генома отцовские) гипертрофированное развитие претерпевают ткани трофобласта, что приводит к патологическому состоянию в виде пузырного заноса. Внутренняя клеточная масса не образуется, зародыш гибнет. Можно заключить, что **девственное развитие нового организма человека невозможно.**

У представителей видов, для которых описан естественный партеногенез (пчелы), как и в случае типичного полового размножения, развиваются потомки с диплоидными соматическими клетками. Восстановление диплоидного набора хромосом обычно происходит путем слияния ово(оо)цита, т.е. яйцеклетки и редукционного тельца во втором делении мейоза. Особого внимания, хотя бы потому, что речь идет об одном из возможных механизмов образования в процессе беременности женщины монозиготных близнецов, заслуживает **полиэмбриония** (см. табл. 6.1). Речь идет о бесполом размножении на стадии состоявшегося зародыша, начавшего развитие с оплодотворения и образования зиготы (типичная форма полового размножения), путем его деления на две или большее число частей, каждая из которых дает в развитии полноценную особь. Среди животных полиэмбриония типична для броненосцев, у которых из первоначально одного зародыша образуется 4-8.

6.4. чередование поколений с бесполом и половым размножением

Многие виды организмов, обычно размножающиеся бесполом путем, в принципе способны к размножению половым путем. Обычно ряд поколений с бесполом размножением сменяется поколением с половым размножением или же осуществляющим половой процесс. **Смена (чередование) бесполом и половых поколений** у разных видов происходит с разной периодичностью, регулярно или через неодинаковые отрезки времени.

Первичное чередование поколений заключается в смене полового размножения на спорообразование. Оно описано для представителей классов споровиков - возбудителей разных форм малярии, малярийных плазмодий, и жгутиконосцев - лейшманий, трипаносом (тип Простейшие), у некоторых растений и объясняется сохранением в филогенезе соответствующих групп организмов как более древней (бесполой), так и более поздней и прогрессивной (половой) форм размножения.

Вторичное чередование поколений заключается в переходе на некоторых стадиях жизненного цикла к бесполому или партеногенетическому размножению в группах животных, которые эволюционно уже освоили половое размножение - кишечнополостные, членистоногие. Включение в жизненные циклы организмов, обычно размножающихся бесполом путем, полового размножения или полового процесса активизирует комбинативную генотипическую изменчивость, чем способствует преодолению генетического однообразия потомков. Этим расширяются эволюционные и экологические перспективы группы.

6.5. половые клетки (гаметы)

В сравнении с функциями других дифференцированных клеток, функция **половых клеток** или **гамет** уникальна. Они обеспечивают передачу генетической (наследственной, биологической) информации между особями разных поколений (передача биоинформации по вертикали), чем сохраняют жизнь как явление во времени. Гаметы представляют собой одно из многих направлений дифференцировки клеток многоклеточных живых существ. У человека, например, таких направлений порядка 220- 250. Половые клетки образуют особую клеточную линию, специализированную для выполнения репродуктивной функции.

Предположительно клетки этой линии образуются из бластомеров, имеющих на вегетативном полюсе цитоплазму особого рода - **зародышевую (половую) плазму**¹, богатую РНК.

У некоторых видов организмов (двукрылые насекомые) зародышевая плазма в виде специфических гранул обособляется очень рано - до начала дробления, фактически в яйцеклетке. Если зародышевую плазму разрушить, например, подействовав на нее УФ-лучами, то развиваются стерильные особи, у которых гаметы не образуются.

Разделение клеток начавшего индивидуальное развитие организма на линию половых клеток и соматические происходит обязательно. У одних видов это случается достаточно рано. Так, у веслоногого рака циклопа на 5-м делении дробления, у плодовой мухи - на 13-м делении, у бесхвостых амфибий (лягушки) - на стадии бластулы. Сравнительно поздно клетки, имеющие в цитоплазме зародышевую плазму, обособляются в клетки-непосредственные предшественницы половых клеток, у млекопитающих это происходит на стадии гастрюляции.

По сравнению с соматическими клетками зрелые половые клетки имеют типичные отличия. Во-первых, это **гаплоидный** (у человека $n = 23$) **набор хромосом** в ядрах. Благодаря этому вследствие оплодотворения в зиготе восстанавливается типичный для вида диплоидный (у человека $2n = 46$) набор хромосом. Во-вторых, это необычное для других клеточных типов **значение ядерно-цитоплазматического отношения**, которое у яйцеклеток снижено в силу значительного количества цитоплазмы (в частности, благодаря наличию желтка) - у соматических клеток оно обычно выражается дробью $1/6$, тогда как у яйцеклеток - $1/15$. У сперматозоидов ядерно-цитоплазматическое отношение повышено в силу малого количества цитоплазмы. В-третьих, это **низкий уровень обменных процессов**, близкий к состоянию анабиоза. В-четвертых, **сперматозоиды неспособны вступать в митотический цикл, а у яйцеклеток эта способность восстанавливается вследствие оплодотворения или действия фактора, провоцирующего партеногенез**. В-пятых, только зигота - клетка, образующаяся вследствие оплодотворения, т.е. в результате слияния мужской и женской гамет, характеризуется **истинной тотипотентностью** и в связи с этим может рассматриваться как **универсальная стволовая клетка-родоначальница**. Именно ее потомки дают

¹ Первым термин «зародышевая плазма» использовал А. Вейсман, но совершенно в ином смысле - для обозначения наследственного вещества клеточного ядра (фактически хромосом).

в дальнейшем все цитотипы многоклеточного организма соответствующего вида (у человека таких цитотипов 220-250). При партеногенетическом развитии, не требующем оплодотворения, свойство универсальной тотипотентной стволовой клетки характеризует яйцеклетку.

Существуют различия между женскими и мужскими половыми клетками, что обусловлено различными функциями яйцеклетки и сперматозоида в процессе размножения. Так, **яйцеклетки имеют оболочки**, которые выполняют защитную функцию, обеспечивают требуемый уровень обмена веществ, препятствуют проникновению в яйцеклетку ядра более чем одного сперматозоида (блокируют полиспермию), способствуют у плацентарных животных имплантации (внедрению) зародыша в стенку матки, поддерживают форму зародыша. По крайней мере, у некоторых видов животных клетками (фолликулярными, питающими) оболочек яйцеклетки образуются некоторые виды и(м)РНК, которые затем используются в белковых синтезах зародыша. Так, в этих клетках транскрибируются так называемые гены с материнским эффектом - *Bicoid* (соответствующий белок экспрессируется на переднем полюсе) и *Nanos* (соответствующий белок экспрессируется на заднем полюсе) зародыша плодовой мухи. Эти белковые продукты создают градиенты, благодаря которым определяется положение переднего (головного) и заднего концов зародыша, краниальное (ростральное) и каудальное

Источник KingMed.info

направления. В создании переднезадних координат участвует также ген *Hunchback*, транскрипция и трансляция которого осуществляются в клетках самого зародыша. Для **яйцеклетки характерна ооплазма-тическая (плазматическая) сегрегация**. После оплодотворения (у асцидий через 5 мин), но до начала делений дробления происходит закономерное перераспределение в объеме фактически яйцеклетки участков цитоплазмы разного химического состава. В последующем развитии цитоплазма этих участков закономерно обнаруживается в клетках разных, но конкретных эмбриональных зачатков (фактически тканей и органов). Можно думать, что способность blastomeres дифференцироваться в определенные клеточные типы каким-то образом связана со свойствами той цитоплазмы, которую они наследуют в процессе делений дробления. Наличие и закономерная локализация в цитоплазме зародышевой (половой) плазмы рассматриваются как частный случай ово(оо)плазматической сегрегации.

Сперматозоид имеет **аппарат движения** в виде жгутика. В семенной жидкости мужская половая клетка человека демонстрирует скорость порядка 5 см/ч. Если исходить из соотношения преодолеваемого расстояния и длины движущегося объекта, то при названной скорости сперматозоид человека перемещается в 1,5 раза быстрее пловца олимпийского ранга. Женская половая клетка лишена аппарата активного движения. Расстояние до полости матки, равное примерно 10 см, она преодолевает с током жидкости в маточных (фаллопиевых) трубах за 4-7 сут.

Сперматозоиды некоторых видов животных имеют так называемый **акросомный аппарат**, выбрасывающий при контакте с яйцеклеткой особую нить. Путем растворения ферментами, выделяемыми акросомным аппаратом, оболочек яйцеклетки достигается образование своеобразного «канала» и проникновение ядра спермия в цитоплазму женской гаметы. Наряду с акросомным аппаратом, у представителей иных видов описаны другие приспособления и механизмы, способствующие оплодотворению.

6.5.1. ГЕНЕТИЧЕСКИЙ МАТЕРИАЛ (ХРОСОМОСЫ, ХРОМАТИН, ДНК) ГАМЕТ И СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТОК. КЛОНИРОВАНИЕ МНОГОКЛЕТОЧНЫХ ЖИВОТНЫХ

В истории биологии был период, когда половые и соматические клетки противопоставляли друг другу, наделяя только гаметы всей полнотой свойств жизни, проносимых ими через поколения.

В конце XIX века А. Вейсман сформулировал идею, которую можно рассматривать как **первую попытку объяснить природу генетического механизма клеточной дифференцировки**. Согласно этой идее, клеточные **деления** бывают двух типов - **равнонаследственные** и **неравнонаследственные**. Неравнонаследственно делятся соматические клетки. В результате таких делений дочерние клетки в сравнении с материнской теряют некоторую часть хромосомного материала (**де-минутция хромосом**), причем клетки разных направлений дифференцировки теряют разные фрагменты хромосомного материала. В своих воззрениях А. Вейсман исходил из данных наблюдений за поведением хромосомного материала делящихся клеток круглого червя лошадиной аскариды. Наследственный материал в неизменном объеме сохраняют гаметы. Поэтому, по мнению А. Вейсмана, именно половые клетки, и только они, способны обеспечить развитие нового полноценного организма. Более поздние исследования показали, что неравнонаследственные клеточные деления, связанные с потерей части хромосомного материала, имеют ограниченное распространение и не представляют собой генетический механизм клеточной дифференцировки. Так, у другого круглого червя, популярного в настоящее время объекта генетических исследований *Caenorhabditis elegans*, клеточные деления не сопровождаются деминутцией хромосом. Даже у лошадиной аскариды хромосомный материал в связи с делениями теряется не

Источник KingMed.info

во всех клеточных линиях, т.е. не при всех направлениях клеточной дифференцировки. В настоящее время гипотеза А. Вейсмана имеет только историческое значение.

Определяющее значение имеют результаты современных экспериментальных исследований, доказавших возможность развития полноценного организма на основе наследственного материала (генетической, биологической информации) ядра соматической дифференцированной клетки, например кишечного эпителия (рис. 6.2). Особое место в этом плане принадлежит работам, выполненным в Великобритании группой Дж. Гердона на бесхвостых амфибиях (лягушка). Принципиально опыт заключался в следующем. Уничтожалось ядро яйцеклетки, после чего в нее вводилось ядро дифференцированной соматической клетки и обеспечивались условия для развития. Такие яйцеклетки в 1-2% экспериментов в процессе развития давали взрослых лягушек. Приведенный результат доказывал, что наследственный мате-

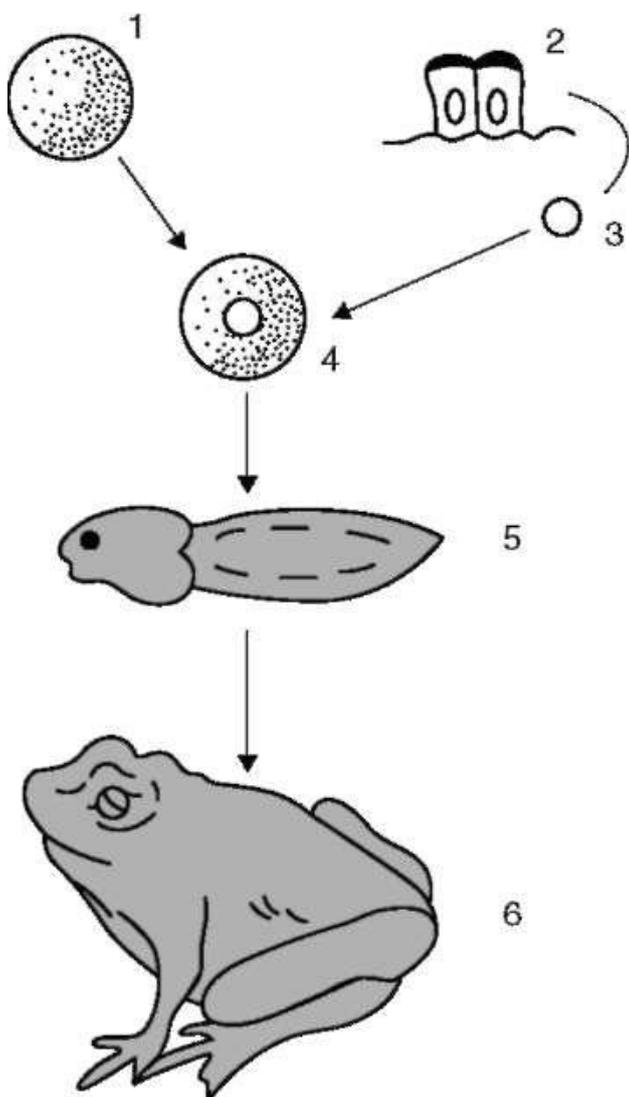


Рис. 6.2. Успешное клонирование лягушки, доказывающее полноценность наследственного материала соматической дифференцированной клетки: 1 - яйцеклетка с разрушенным УФ-лучами ядром - источник цитоплазмы; 2 - эпителиальные клетки кишечника головастика - источник ядерного наследственного материала; 3 - ядро; 4 - имплантация ядра соматической клетки в лишенную собственного ядра яйцеклетку; 5 - клонированный головастик; 6 - клонированная лягушка

риал (ДНК) дифференцированных соматических клеток позвоночных в количественном и качественном (информационно-содержательном) отношении является биологически полноценным. Вместе с тем уже тогда возникли подозрения, что клонированные животные чаще в сравнении с лягушками, появляющимися на свет обычным путем, имели дефекты развития.

В последующие годы были развернуты работы по клонированию высших животных, в частности млекопитающих. Знаковым событием, хотя единственный позитивный результат пришелся на 236 попыток, стало клонирование шотландскими учеными овцы Долли. Для получения Долли использовали энуклеированную (лишенную ядра) яйцеклетку овцы породы шотландская черномордая, в которую ввели диплоидное ядро клетки молочной железы беременной овцы породы финский дорсет. Описанную клеточную конструкцию активировали к дроблению посредством электрического разряда. По достижении развивавшимся *ex vivo* зародышем определенной стадии его имплантировали в матку приемной (суррогатной) матери-овцы. Есть сообщения об успешном клонировании млекопитающих других видов животных - коровы, мыши, лошади, собаки и др. (2-2,8% успеха).

Результативное клонирование млекопитающих разных видов породило амбициозную идею клонирования человека. Здесь, однако, сразу же последовали указания на наличие, наряду с техническими и биологическими проблемами, также проблем этического и правового порядка. В Нью-Йорке в ООН работает Комитет по клонированию человека, соответствующие комитеты национального уровня существуют во многих странах мира, в том числе в РФ. В настоящее время принято различать два вида клонирования человека: репродуктивное (задача - получить нового человека, генетически и, как предполагают некоторые люди, фенотипически близкого или даже идентичного человеку-донору соматического ядра) и терапевтическое (задача - вырастить зародыш в условиях *ex vivo* до стадии бластоцисты с целью получения из внутренней клеточной массы эмбриональных стволовых клеток, которые затем будут использованы в интересах регенеративной медицины - см. п. 3.2). Протесты против любых форм клонирования людей носят массовый, международный и многоконфессиональный характер. Государственной думой РФ принято и подтверждено решение (Федеральный закон о временном запрете ?) о моратории на работы в области репродуктивного клонирования.

При обсуждении проблемы клонирования высших животных нередко обходят стороной известные и сейчас уже не единичные факты. Эти факты указывают на то, что клонированные особи в своей массе характеризуются сниженным здоровьем и жизнеспособностью. Так, овца Долли умерла, прожив лишь половину среднего для овец срока жизни. Мыши, полученные путем клонирования, причем в разных лабораториях, отличаясь пониженной жизнеспособностью, проживают в целом не более половины срока, соответствующего средней продолжительности жизни их линии. Способность к обучению у клонированных мышей снижена.

Настораживают данные о низком проценте успешного клонирования в сравнении с числом предпринимаемых попыток. Так, согласно мировой статистике, на начало 2002 г. из общего числа попыток получить новый организм путем клонирования успехом (рождением животного) завершилась лишь небольшая часть: овцы - создано 3156 эмбрионов, получено 50 ягнят; коровы - 8600 эмбрионов, 111 телят; мыши - 7613 эмбрионов, 54 мышонка; обезьяны - 78 эмбрионов, 2 родившиеся обезьянки. Смертность плодов и новорожденных среди клонируемых животных достигает 85%. Более 1/3 из числа родившихся и выживших клонированных животных имеют серьезные нарушения здоровья, в том числе угрожающие жизни.

Одно время немало можно было слышать о репродуктивном клонировании как инструменте получения гениев и/или возвращении в настоящую жизнь выдающихся личностей прошлого. На сегодняшний день есть основания говорить о несомненном успехе современной биологии, решившей технические вопросы клонирования даже высших животных. Открытым, однако, остается вопрос о том, насколько точно клонированные животные могут копировать свой прототип. Особенно остро названный вопрос стоит в отношении клонирования людей. Во всяком случае нельзя забывать о том, что стартовая генетическая программа индивидуального развития особи (индивидуума) проявляет себя во вполне определенных, достаточно переменных условиях среды - I-го порядка (генотипической), IIа, IIб и III-го порядка (см. п. 4.3.1.1). Следует также иметь в виду, что принципиальное место в формировании человека как личности принадлежит культурной (социальной) программе индивидуального развития.

6.5.2. ГАМЕТОГЕНЕЗ

Гаметогенез - процесс образования гамет или половых клеток: яйцеклеток (**овогенез** или **оогенез**) и сперматозоидов (**сперматогенез**).

В нем выделяют ряд стадий (рис. 6.3).

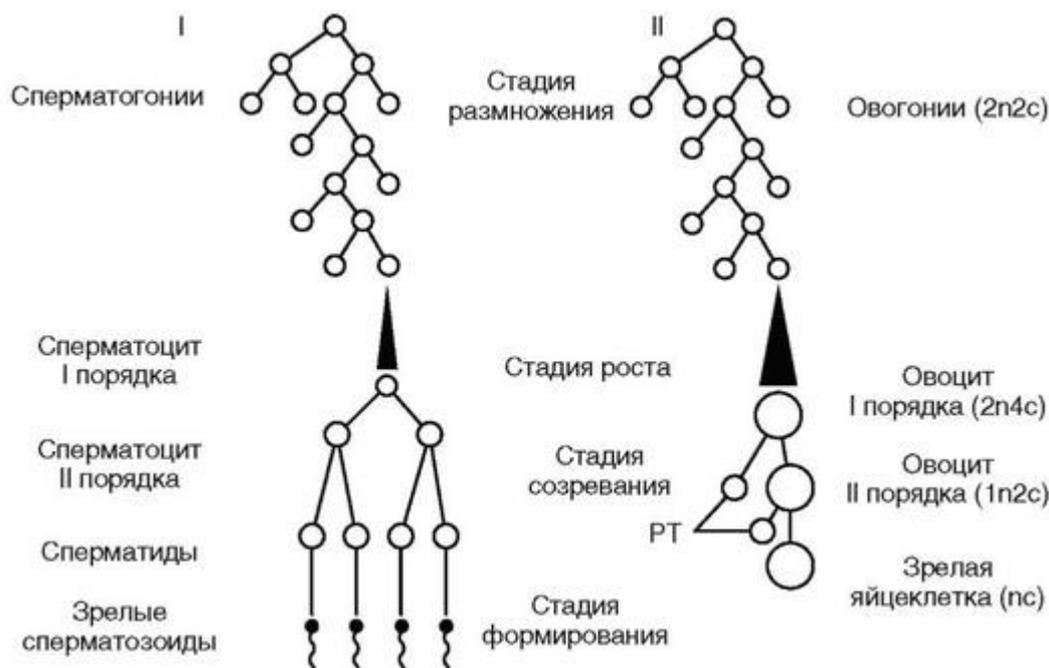


Рис. 6.3. Гаметогенез (схема): I - сперматогенез; II - ово(оо)генез; n - число хромосом в гаплоидном наборе; c - количество ДНК в гаплоидном наборе хромосом n ; РТ - редуционные тельца

Между процессами ово(оо)генеза и сперматогенеза имеются различия. Так, стадия формирования выделяется фактически только в сперматогенезе. Стадия размножения сперматогенеза осуществляется в половой железе - в семеннике, начиная с момента достижения мужскими особями состояния половой зрелости. Размножение ово(оо)го-ний происходит в яичнике, главным образом в эмбриогенезе. Наиболее интенсивно у людей этот процесс протекает между 3-м и 7-м месяцами внутриутробного развития, а завершается на 3-м году жизни. Стадия роста ово(оо)генеза более сложна, отчасти в связи с накоплением в цитоплазме яйцеклетки питательного материала желтка, а также в связи с явлением ово(оо)плазматической сегрегации, а стадия созревания женских половых клеток растянута во времени и завершается в том случае, если происходит оплодотворение.

Образование функционально зрелых сперматозоидов в семенниках происходит на протяжении всей взрослой жизни мужчины. Интенсивность процесса может снижаться по достижении мужчиной 50-летнего возраста. Продукция зрелых половых клеток прекращается с достижением женским организмом климактерического периода онтогенеза.

На **стадии размножения** клетки-предшественницы гамет называются **ово(оо)гониями** и **сперматогониями**. Эти клетки осуществляют серию последовательных митотических делений, что приводит к существенному росту их количества. Так как клетки-предшественницы женских и мужских гамет размножаются обычным митозом, то ово(оо)гонии и сперматогонии вне митотического цикла так же, как все соматические клетки, характеризуются диплоидностью, и в отношении числа хромосом, и в отношении количества ДНК - $2n2c$, где n - число хромосом в гаплоидном наборе, c - количество ДНК в гаплоидном наборе хромосом. В процессе митотического цикла (после завершения митоза и до синтетического периода интерфазы) хромосомы названных клеток представлены парами гомологичных аутосом и парой половых гетерохромосом, каждая из которых содержит по одной биспирали ДНК - $2n2c$. По завершении синтетического периода (на протяжении постсинтетического периода интерфазы) число хромосом остается прежним, однако каждая из них содержит две биспирали ДНК - $2n4c$. В метафазе митоза хромосомы представлены каждая двумя дочерними хроматидами, соединенными только в области центромеры, фактически хромосомами будущих дочерних клеток - $4n4c$. По завершении митоза в части числа хромосомных наборов и количества ДНК диплоидные дочерние клетки приобретают обычный вид - $2n2c$.

Среди сперматогоний выделяют клетки двух типов: светлые (А) и темные (Б). Темные клетки - неделящиеся или покоящиеся - рассматривают как стволовые. Светлые сперматогонии активно размножаются, поставляя клеточный материал для образования зрелых сперматозоидов.

На **стадии роста** наблюдается увеличение размеров клеток-предшественниц половых клеток, которые уже называются **ово(оо)цитами** и **сперматоцитами I порядка** (первичные овоциты и сперматоциты). При этом ово(оо)циты I порядка крупнее сперматоцитов I порядка. Увеличение клеточных размеров на названной стадии объясняют накоплением веществ, необходимых для предстоящего деления. Большой вклад в рост размеров ово(оо)цитов I порядка вносит накопление в их цитоплазме питательного материала - желтка. Так, растущие ово(оо)циты плодовых мух за три дня увеличивают объем в 90 000 раз, лягушек - в 64 000 раз, мыши - более чем в 40 раз. Наиболее распространенный способ, обеспечивающий рост ово(оо)цитов I порядка и наблюдаемый, в частности, у млекопитающих, связан с наличием и трофической (питающей) активностью особых фолликулярных (питающих) клеток. Стадию роста делят на два периода - превителлогенеза (до образования и накопления желтка) и вителлогенеза (образование и накопление желтка). **Превителлогенез** (он же период малого или цитоплазматического роста яйцеклетки) характеризуется относительно незначительным и пропорциональным увеличением объемов ядра и цитоплазмы без изменения значений ядерно-цитоплазматического отношения. Многие эмбриологи считают, что на стадию роста приходится предмейотическая репликация ДНК, тогда как другие эмбриологи относят это событие к профазе редукционного деления стадии созревания. **Вителлогенез** (он же период большого или трофоплазматического роста) характеризуется объемным увеличением цитоплазмы в связи с появлением в ней питательного материала - желтка, который представляет собой сложное вещество белково-липидно-углеводной природы. Следствием периода большого роста является выраженное снижение значений ядерно-цитоплазматического отношения.

Стадия роста ово(оо)цитов I порядка у некоторых видов животных укладывается в достаточно короткое время, тогда как у других занимает продолжительный отрезок времени. Так, у человека длительность стадии роста яйцеклеток может составлять около 30 лет.

6.5.2.1. Мейоз

Основное событие **стадии созревания - мейоз**, способ образования половых клеток, который состоит из двух последовательных быстро происходящих друг за другом делений - **редукционного** и **эквационного**.

Мейоз (рис. 6.4) решает две важные задачи. Во-первых, образуются клетки (гаметы) с гаплоидным набором хромосом. Этот результат достигается благодаря тому, что два деления мейоза происходят при однократной репликации ДНК. До настоящего времени нет полной ясности, к какой из стадий гаметогенеза следует отнести эту репликацию: происходит ли она в завершающей фазе стадии роста или в самом начале стадии созревания, непосредственно перед профазой I деления мейоза или даже во время профазы. С одной стороны, есть мнение, что ово(оо)цит I-го порядка, завершив цитоплазматические преобразования стадии роста, сразу же вступает в профазу первого деления стадии созревания. С другой стороны, ряд эмбриологов относят предмейотическую репликацию ДНК к началу профазы первого деления мейоза. Нельзя исключить, что репликация ДНК, начавшись на стадии роста, завершается в начале стадии созревания. Во-вторых, в профазе и анафазе первого деления мейоза заложены механизмы генотипической комбинативной изменчивости, что делает гаметы генотипически отличными от клеток-предшественниц половых клеток, а также в целом от соматических клеток обоих родителей.

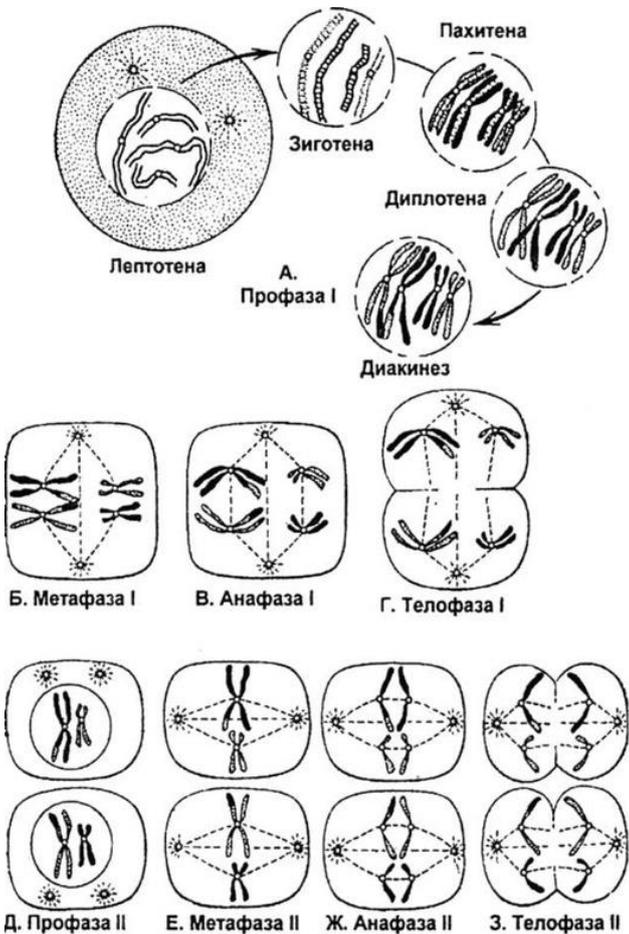


Рис. 6.4. Мейоз (схема)

Вступая в **первое деление (редукционное) стадии созревания**,

клетки имеют диплоидный набор хромосом, но увеличенное вдвое количество ДНК - $2n4c$. Так же как в обычном митозе, в **профазе** названного деления происходит компактизация (спирализация) материала хромосом. Вместе с тем в отличие от обычного митоза в нем наблюдается попарное сближение (**конъюгация**) гомологичных хромосом, которые тесно контактируют друг с другом взаимосоответствующими (гомологичными) участками. Результат конъюгации - образование пар хромосом или **бивалентов**, число которых n . Поскольку каждая хромосома, вступающая в мейоз, состоит из двух хроматид, то бивалент представлен четырьмя хроматидами - $4c$. В профазе I мейоза отмечается формирование веретена деления. К концу профазы степень спирализации хромосом в бивалентах возрастает, и они укорачиваются. Профаза первого деления мейоза занимает в сравнении с профазой обычного митоза больше времени. В ней выделяют несколько стадий.

Лептотена - хромосомы начинают процесс спирализации и становятся видимыми в микроскоп как тонкие и достаточно длинные нитчатые структуры.

Зиготена - соответствует началу конъюгации гомологичных хромосом, объединяемых в биваленты особыми структурами - **синаптомальными комплексами** (рис. 6.5). Если не все гомологичные хромосомы конъюгируют и остаются неспаренные хромосомы вне бивалентов, клетка гибнет апоптозом.

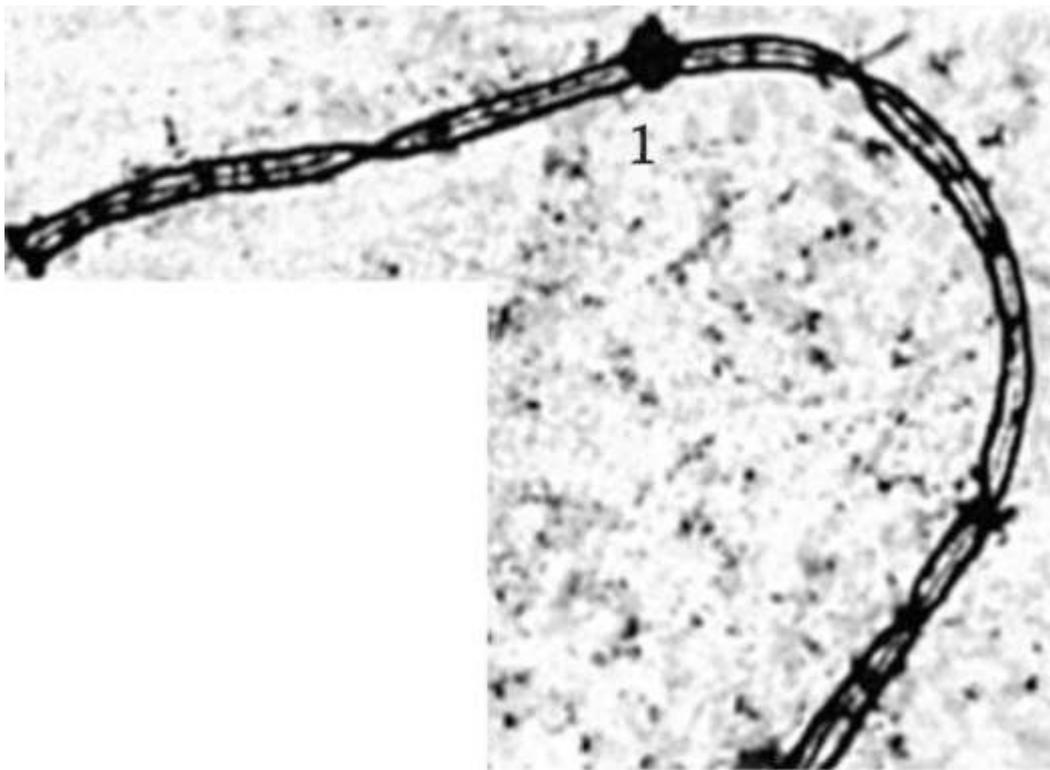


Рис. 6.5. Образование бивалентов конъюгирующими гомологичными хромосомами в зиготене профазы I мейоза: 1 - центромера

Пахитена - на фоне продолжающейся спирализации хромосом и их укорочения гомологичные хромосомы осуществляют **кроссинговер** или **перекрест**, заключающийся в обмене взаимосоответствующими (гомологичными) участками. Кроссинговер обеспечивает рекомбинацию отцовских и материнских аллелей в группах сцепления (гомологичных

Источник KingMed.info

хромосомах). Перекрест хромосом может происходить в различных местах хромосом, в связи с чем кроссинговер в каждом конкретном случае приводит к обмену разными участками генетического материала. Возможны образование нескольких перекрестов между двумя хроматидами (рис. 6.6) или обмен взаимосоответствующими фрагментами происходит между более чем двумя хроматидами бивалента (рис. 6.7). Все это повышает эффективность кроссинговера как механизма генотипической комбинативной изменчивости.

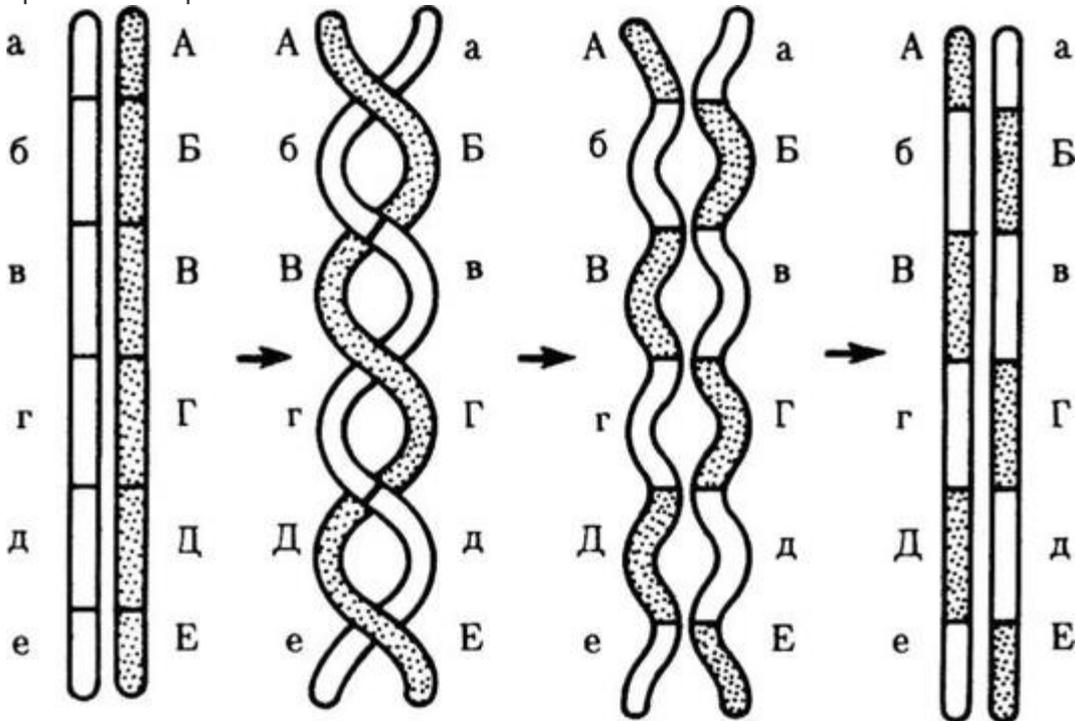


Рис. 6.6. Многократный кроссинговер между гомологичными хромосомами (схема): А-Е, а-е: локусы хромосом

Диплотена - гомологичные хромосомы начинают отдаляться друг от друга, в первую очередь в области центромер, но сохраняют связь в местах произошедшего кроссинговера - **хиазмы**. Можно говорить о продольном расщеплении конъюгировавших гомологичных хромосом по всей их длине. В итоге каждая пара хромосом воспринимается как комплекс из четырех структур-хроматид (дочерних хромосом) - **тетрада** (рис. 6.8).

Диакинез - завершает профазу первого деления мейоза; гомологичные хромосомы остаются в составе бивалентов, однако их связь ограничивается только отдельными точками хиазм (рис. 6.9). Сами биваленты приобретают форму колец, восьмерок, крестов.

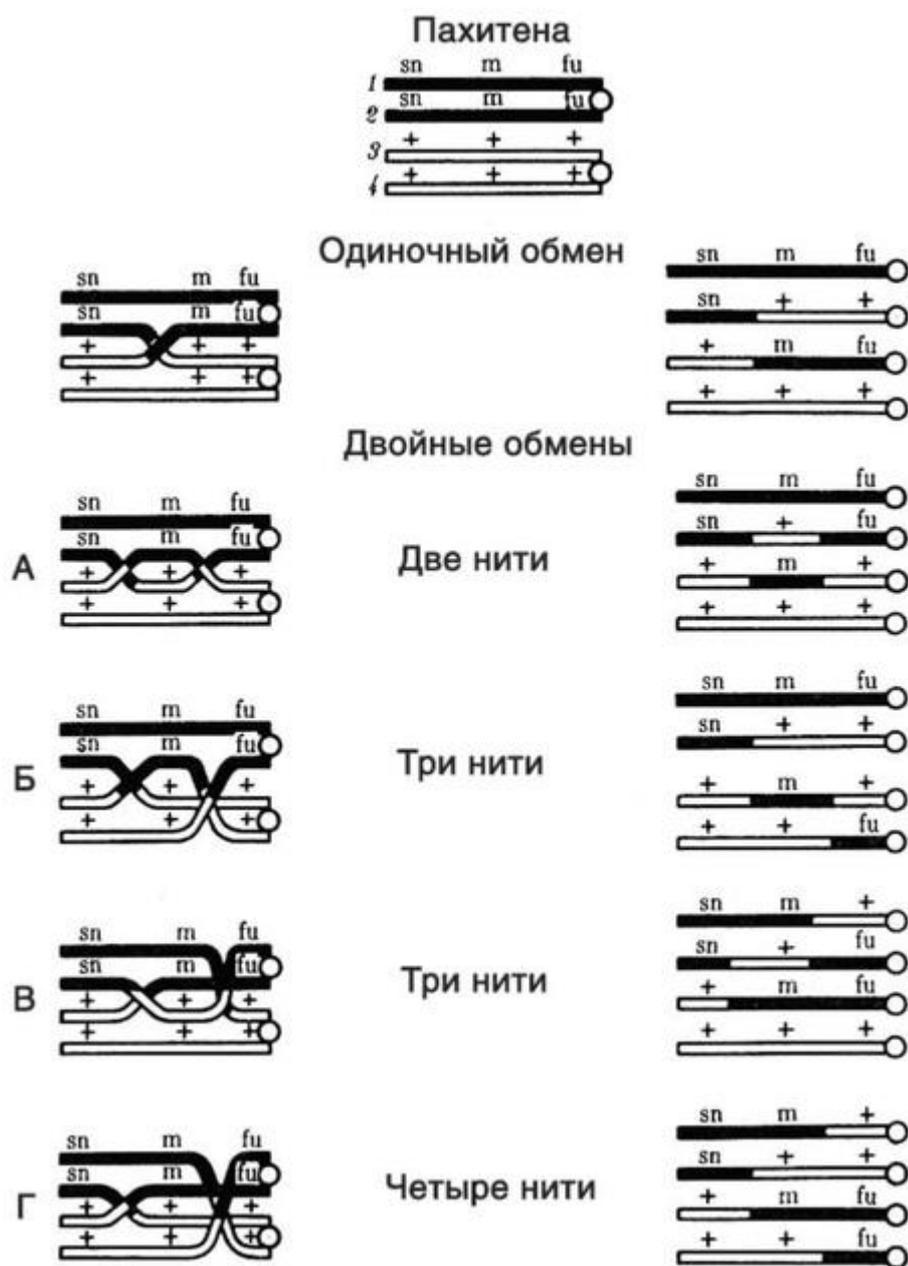


Рис. 6.7. Множественный обмен участками между четырьмя хроматидами в пахитене профазы I мейоза (схема): в кроссинговере могут участвовать все четыре хроматиды бивалента; латинскими буквами обозначены мутантные аллели, знаком «+» - аллели дикого типа (нормальные)

В период диакинеза прохождение клетками-предшественницами гамет редукционного деления приостанавливается (согласно более ранним представлениям, это происходит уже в диплотене), в связи с чем этот период называют стационарным. Деление возобновляется и завершается в случае овуляции яйцеклетки (см. здесь же, ниже) и ее оплодотворения. Несмотря на характеристику периода диакинеза как стационарного, в нем активно происходят синтетические процессы. Эти процессы относятся к прогенезу (предзародышевому периоду онтогенеза), поскольку результаты этих процессов в виде синтезируемых молекул и образуемых структур необходимы в основном для ранних стадий развития зародыша. Во-первых, речь идет об амплификации ДНК (см. также п. 2.4.3.4-а), которая заключается в образовании многочисленных копий генов рибосомных РНК - малой (18S) и большой (28S) субъединиц.

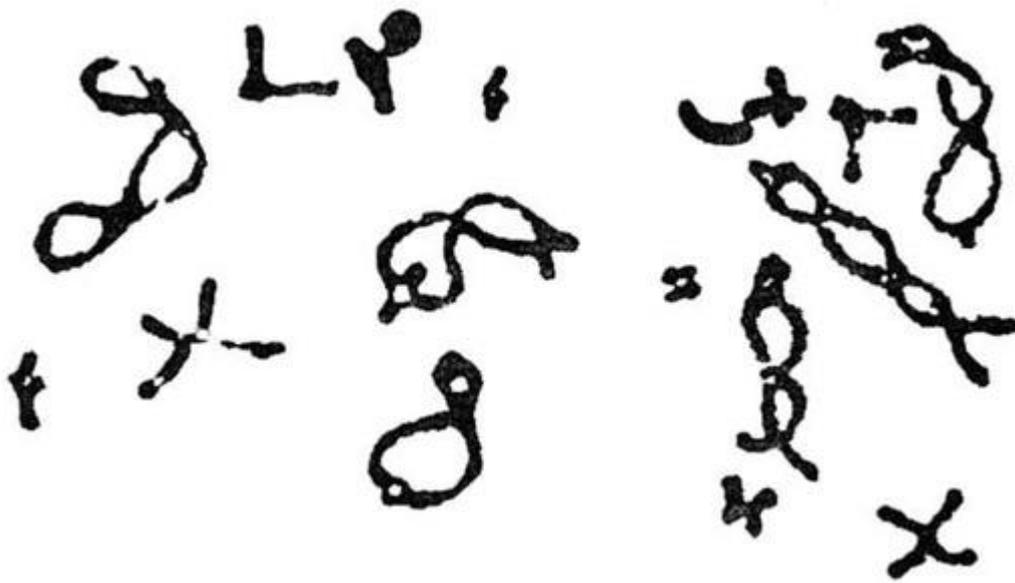


Рис. 6.8. Диплотена в профазе I мейоза кузнечика

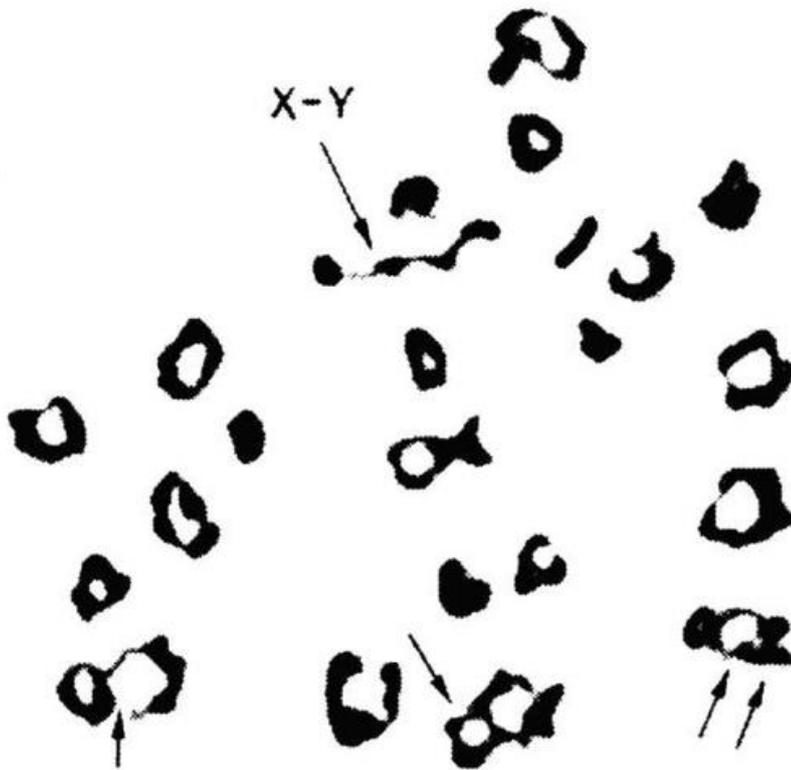


Рис. 6.9. Диакинез в профазе I мейоза человека: стрелками показаны хиазмы

Копии, став самостоятельными, преобразуются морфологически в ядрышки числом до нескольких тысяч. В таких ядрышках образуются субъединицы рибосом, которые используются для организации биосинтеза белков клетками зародыша. По завершении своей функции эти ядрышки перемещаются в цитоплазму и там разрушаются. В диакинезе амплифицируются гены 5S рибосомных РНК и тРНК. Эти РНК нарабатываются в необходимых (т.е. больших) количествах «впрок» для белковых синтезов тоже в эмбриогенезе. Благодаря амплификации генов время «наработки» требуемого для ранних стадий эмбриогенеза количества, например, рибосом у африканской шпорцевой лягушки (*Xenopus laevis*) сокращается с 500 лет до 3 мес. Во-

Источник KingMed.info

вторых, в период диакинеза профазы I мейоза хромосомы приобретают вид «ламповых щеток» (см. п. 2.4.3.4-а), чем обеспечивается образование «впрок» для нужд зародыша определенного набора и(м)РНК. Описанные процессы наиболее полно изучены на бесхвостых амфибиях (лягушка), для которых характерна относительно поздняя (стадия гастрюлы) активизация собственного генома. У млекопитающих, например, полное биоинформационное обеспечение процессов эмбриогенеза за счет функционально-генетической активности (транскрипции) собственных генов отмечается начиная со стадии 8 бластомеров.

В **метафазе** первого деления мейоза завершается формирование веретена деления. Нити этого веретена, связанные, в частности, с центромерами гомологичных хромосом, направляются к разным полюсам. Такое положение нитей обеспечивает закономерную ориентацию бивалентов в плоскости экватора веретена деления.

В **анафазе** первого деления мейоза благодаря ослаблению связей между гомологичными хромосомами в бивалентах и закономерной ориентации бивалентов в метафазной пластинке гомологи каждого бивалента расходятся к разным полюсам клетки. При этом гомологичные хромосомы отцовского и материнского происхождения каждой пары расходятся независимо друг от друга. В результате на полюсах клеток по завершении анафазы I стадии созревания мейоза собираются «случайные» ассоциации гомологичных хромосом отцовского и материнского происхождения. Независимое расхождение к полюсам в анафазе редукционного деления хромосом отцовского и материнского происхождения разных бивалентов представляет собой, наряду с кроссинговером, еще один эффективный механизм генотипической комбинативной изменчивости. В этом случае происходит перекомбинация целых групп сцепления, причем с уже измененным в сравнении с хромосомами родителей вследствие прошедшего кроссинговера набором аллелей.

Благодаря особенностям анафазы, в результате **телофазы** первого деления мейоза образуются гаплоидные клетки. Однако хромосомы в таких клетках представлены двумя хроматидами, т.е. содержат две би-спирали ДНК - $n2c$.

Второе (эквационное) деление стадии созревания мейоза проходит без репликации ДНК и дает клетки с гаплоидным набором хромосом (к полюсам расходятся отдельные хроматиды), каждая из которых содержит одну биспираль ДНК - nc .

Особенность стадии созревания ово(оо)генеза в сравнении с одноименной стадией сперматогенеза заключается в асимметричном характере обоих мейотических делений. В результате в ово(оо)генезе из одного ово(оо)цита I порядка образуется одна функционально полноценная яйцеклетка и три так называемых редукционных или полярных тельца (одно - вследствие асимметричного деления яйцеклетки и два - вследствие симметричного деления редукционного тельца, возникшего при первом делении стадии созревания). Это мелкие клетки, которые гибнут (но: см. п. б.2). По завершении первого деления мейоза и отделения первого полярного тельца клетка, которая даст зрелую яйцеклетку, приобретает название **ово(оо)цит II порядка** (вторичный овоцит).

Асимметричность делений способствует сохранению в одной женской гамете всего запаса питательных и иных, необходимых для развития нового организма, веществ.

По завершении стадии созревания сперматогенеза образуются четыре клетки, каждая из которых даст полноценный сперматозоид - nc .

Стадия созревания сперматогенеза завершается образованием клеток, называемых **сперматидами**. Сперматиды, чтобы стать **функционально зрелыми**

сперматозоидами, проходят **стадию формирования**. На этой стадии хроматин уплотняется, изменяются форма и размеры ядра, формируется аппарат активного движения клетки - **жгутик**, образуется **акросома** (у представителей некоторых видов), перестраивается митохондриальный аппарат клетки, она теряет некоторую часть цитоплазмы.

Гаметогенез - высокопродуктивный процесс. За период половой жизни мужчина производит порядка 500 млрд сперматозоидов. На 5-м месяце внутриутробного развития в половой железе женского организма насчитывается 6-7 млн клеток-предшественниц яйцеклеток. К началу репродуктивного периода (постнатальный онтогенез) в яичниках присутствует примерно 100 000 ово(оо)цитов I порядка. От момента полового созревания женского организма до прекращения гаметогенеза (менопауза) в яичниках созревает 400-500 клеток-предшественниц яйцеклеток, готовых к оплодотворению. На протяжении репродуктивного периода постнатального онтогенеза в яичниках женщины под влиянием лютеинизирующего гормона гипофиза ежемесячно, как правило, одна женская гамета покидает яичник (**овуляция** - разрыв зрелого граафо-вого пузырька; яйцеклетка сначала попадает в свободную брюшную полость, а затем в маточную трубу, где может произойти оплодотворение) и, будучи оплодотворенной, возобновляет мейоз.

Виды, размножающиеся половым путем, характеризуются типичной структурой жизненного цикла, в котором происходит чередование гаплоидной и диплоидной фаз (см. п. 4.3.7.1 и рис. 4.47).

6.5.3. ПЕРВИЧНЫЕ ПОЛОВЫЕ КЛЕТКИ

Ово(оо)генез и сперматогенез (см. п. 6.4.3) происходят в дифференцированных по полу женских или мужских половых железах - яичниках или семенниках. Прежде чем попасть в эмбриональную закладку половой железы, клетки-предшественницы гамет, называемые **первичными половыми клетками** или **гоноцитами**, проходят достаточно сложный путь.

Половой зачаток, содержащий первичные половые клетки - **гоно-бласт**, - образуется бластомерами, имеющими в цитоплазме зародышевую или половую плазму (см. п. 6.4). У млекопитающих первичные половые клетки обособляются в эмбриогенезе относительно поздно (гаструла).

Первичные половые клетки имеют внегонадное происхождение. У людей, например, они обособляются во внутренней клеточной массе (эпибласт, эмбриобласт в более ранней эмбриологической терминологии) и представляют собой потомки тотипотентных эмбриональных стволовых клеток. Их можно видеть в составе зародышевых листков, хотя они не являются производными клеток ни одного из них. На гистологических препаратах первичные половые клетки идентифицируют по относительно крупным размерам (12-20 мкм в диаметре), форме, приближающейся к округлой, центральному положению светлого ядра с крупным ядрышком. Главный гистохимический маркер - высокая

активность фермента щелочной фосфатазы в цитоплазме. Из зародышевых структур они перемещаются во внезародышевые - стенку желточного мешка (внезародышевая мезодерма и энтодерма). В определенном участке энтодермы желточного мешка, вблизи места отхождения аллантаоиса первичные половые клетки концентрируются перед тем, как начать движение в закладки половых желез. Миграция начинается после 25 сут развития. Она происходит в основном по **интерстициальному типу**, т.е. через мезенхиму различных внезародышевых и зародышевых образований путем так называемого **контактного**

ориентирования. Тонковолокнистый слой толщиной порядка 30 нм на поверхности гоноцитов специфически взаимодействует с макромолекулами межклеточного матрикса, например, с фибронектином, ламинином, коллагеном IV типа. Названные белки внеклеточного матрикса, взаимодействуя с белками клеточных оболочек, преимущественно из семейства интегринов, определяют маршруты движения клеток в эмбриогенезе (фибронектин). Часть первичных половых клеток достигает закладок половых желез пассивным образом, **с кровотоком.** Предположительно определенная роль в миграциях гоноцитов принадлежит **хемотаксису**, причем молекулы-аттрактанты, выполняя функцию ориентиров (своеобразных «маяков»), определяющих направление движения гоноцитов, образуются клетками половых валиков (см. п. 4.3.7.1). Есть мнение, что они ответственны также за задержку первичных половых клеток в капиллярах вблизи закладок половых желез. В ткани закладок гоноциты из кровотока попадают путем **диапедеза**, т.е. через сосудистую стенку без нарушения ее целостности. Первичные половые клетки у человека достигают закладок гонад и «обосновываются» там (осуществляют **хоуминг**) между клетками целомического эпителия, которые создают необходимые условия для их дальнейшего развития, на 28-30-е сутки внутриутробного периода. Первичные половые клетки, не достигшие закладок половых желез, гибнут путем апоптоза (см. п. 3.1.2).

Если по какой-то причине в зачатке гонады или вне его гоноциты осуществляют несколько «лишних» митотических циклов, то они теряют перспективу стать гаметами и становятся полипотентными стволовыми клетками (стволовые гаметоциты). В таком случае они могут привести к образованию тератомы.

У позвоночных животных первичные половые клетки или гоноциты являются единственными предшественницами зрелых половых клеток, или гамет. У низкоорганизованных многоклеточных животных

клетками-предшественницами гамет могут стать тотипотентные резервные стволовые клетки (архециты у губок) или даже высоко дифференцированные соматические клетки (хоаноциты - воротничковые клетки, имеющие такие специализированные структуры, как жгутики, у губок).

Вопросы для самоконтроля

1. В чем различия полового и бесполого размножения, и каково биологическое значение этих способов размножения?
2. Как образуются половые клетки? Перечислите и охарактеризуйте этапы гаметогенеза?
3. Какова роль мейоза в рекомбинации генетического материала?

ПЕРИОДИЗАЦИЯ ОНТОГЕНЕЗА

7.1. этапы, периоды и стадии онтогенеза

Индивидуальное развитие представляет собой целостный непрерывный процесс, в котором отдельные события увязаны между собой в пространстве и времени. Существует несколько вариантов периодизации онтогенеза, каждый из которых наилучшим образом подходит для решения конкретных научных или практических задач.

С **общебиологической** точки зрения важнейшее событие онтогенеза - половое размножение. Если соотнести различные временные отрезки онтогенеза со способностью особи осуществлять функцию размножения, то его можно разделить на три периода: дорепродуктивный, активный репродуктивный и пострепродуктивный.

В **дорепродуктивном периоде** особь не способна к размножению. Основное содержание его заключается в развитии зрелого в половом отношении фенотипа. В этом периоде происходят наиболее выраженные структурные и функциональные преобразования, реализуется основная часть наследственной информации, организм обладает высокой чувствительностью к всевозможным воздействиям.

В активном **репродуктивном периоде** особь осуществляет функцию полового размножения, отличается наиболее стабильным функционированием органов и систем, а также относительной устойчивостью к воздействиям.

Пострепродуктивный период связан со старением организма и характеризуется ослаблением или полным прекращением участия в размножении. Снижаются приспособительные возможности и устойчивость к разнообразным воздействиям. Применительно к онтогенезу человека названные периоды дополнительно характеризуются специфическими социальными моментами (образование, трудоспособность, творчество). Для каждого из периодов характерны свои особенности заболеваемости.

Дорепродуктивный период подразделяют еще на четыре: эмбриональный, личиночный, метаморфоз и ювенильный.

Эмбриональный, или зародышевый, период онтогенеза начинается с момента оплодотворения и продолжается до выхода зародыша из яйцевых оболочек. Этот период отличается выраженностью процессов преобразования зиготы в организм, способный к более или менее самостоятельному существованию. У большинства позвоночных он включает стадии (фазы) зиготы, дробления, гастрюляции, а также гисто- и органогенеза. Продолжительность его бывает различна. У плацентарных млекопитающих он особенно укорочен. Единственная яйцевая оболочка растворяется перед имплантацией бластоцисты в слизистую оболочку матки. Зародыш к этому моменту успевает пройти только стадии зиготы и дробления. Все дальнейшие процессы протекают под защитой и при участии материнского организма. Эволюционное значение этих особенностей рассмотрено в п. 13.2.

Дроблению предшествуют процессы гаметогенеза и оплодотворения, которые относятся непосредственно к индивидуальному развитию и могут даже не привести к нему, но которые во многом определяют дальнейшее развитие зародыша в том случае, если зачатие состоится. Эти процессы называют прогенезом, предшествующим собственно онтогенезу. Цитологически процессы гаметогенеза и оплодотворения представляют собой промежуточное звено, связывающее онтогенезы родителей с онтогенезом их потомства.

Личиночный период в типичном варианте наблюдается в развитии тех позвоночных, зародыши которых выходят из яйцевых оболочек и начинают вести самостоятельный образ жизни, не достигнув дефинитивных (зрелых) черт организации. Так, он встречается у некоторых представителей низших позвоночных - много, большинства костистых рыб и земноводных. Наиболее характерные черты личинки: эмбриональный характер ее организации, наличие временных (провизорных) органов, раннее начало функционирования ряда органов, дающее возможность самостоятельного существования. Благодаря активному питанию личинка получает возможность завершить развитие, а благодаря активному перемещению имеет возможность выбирать условия среды, оптимальные для развития, и уйти таким образом от конкуренции со своими же взрослыми сородичами. У позвоночных продолжительность личиночного периода в сравнении с эмбриональным существенно больше.

Метаморфоз состоит в превращении личинки в ювенильную форму. В процессе метаморфоза происходят такие важные морфогенетические преобразования, как частичное разрушение, перестройка и новообразование органов. Степень преобразований тем больше, чем больше различия между средой обитания личинки и взрослого организма, что хорошо иллюстрирует пример развития бесхвостых амфибий (сравни: головастик и лягушка).

Ювенильный период начинается с момента завершения метаморфоза (у плацентарных млекопитающих и человека - с рождения) и заканчивается половым созреванием и началом размножения. Особенности ювенильного периода проявляются в своеобразии питания молодого организма, его поведения и степени зависимости от родителей. С морфологической точки зрения для этого периода характерны интенсивный рост, установление окончательных пропорций между различными частями тела, завершение развития скелета, кожных покровов, смена зубов, завершение развития половых желез и гормональной регуляции.

Продолжительность ювенильного периода у позвоночных варьирует от минимальной, равной 13-18 сут у мышей-полевков, до максимальной, равной 18-20 годам у белуги, крокодила, альбатроса, слона. У многих представителей позвоночных, особенно у человека, достижение половой зрелости и начало размножения могут быть разделены значительным промежутком времени.

Применение **эколого-эмбриологического** подхода позволяет разделить онтогенез на этапы, протекающие **до рождения, во время и после рождения** особи. Само рождение, т.е. выход развивающейся особи из оболочек яйца или из организма матери, у разных видов происходит на разных стадиях зрелости. В то же время у всех видов до рождения организм находится под защитой яйцевых оболочек или материнского организма и не способен питаться и осуществлять другие важные функции самостоятельно. Защищенность ранних, морфофункционально незрелых стадий обеспечивает выживаемость вида. После рождения особь устанавливает связи с новой средой, начинает самостоятельно питаться, передвигаться и осуществлять все другие функции.

Более подробное изложение периодизации онтогенеза человека, имеющее практическое значение в акушерской и педиатрической практике, см. п. 7.6.1 и табл. 7.3.

7.2. морфофизиологические и эволюционные особенности яиц хордовых

7.2.1. ПРОИСХОЖДЕНИЕ ЯЙЦЕКЛЕТОК

Яйца хордовых состоят из яйцеклетки, называемой иногда также яйцом, и яйцевых оболочек. **Яйцеклетки** образуются в женской половой

железе - яичнике. Они проходят долгий путь развития, который начинается в эмбриональном и продолжается в активном репродуктивном периоде онтогенеза особей женского пола.

Первичные половые клетки очень рано в эмбриогенезе обособляются от соматических клеток. Так, у бесхвостых амфибий гонциты обособляются на стадии бластулы, у птиц они определяются при формировании первичного гипобласта, у млекопитающих в эпибласте на стадии гастролы, у хвостатых амфибий этот процесс осуществляется позже, на стадии гастролы или даже нейрулы (в мезодерме). Затем эти клетки совершают перемещения, достигая, в конце концов, зачатков половых желез. Гонциты млекопитающих сначала оказываются во внезародышевой области в устье желточного мешка, а затем мигрируют в закладки гонад (рис. 7.1). Механизмы миграции изложены в пункте 6.5.3.

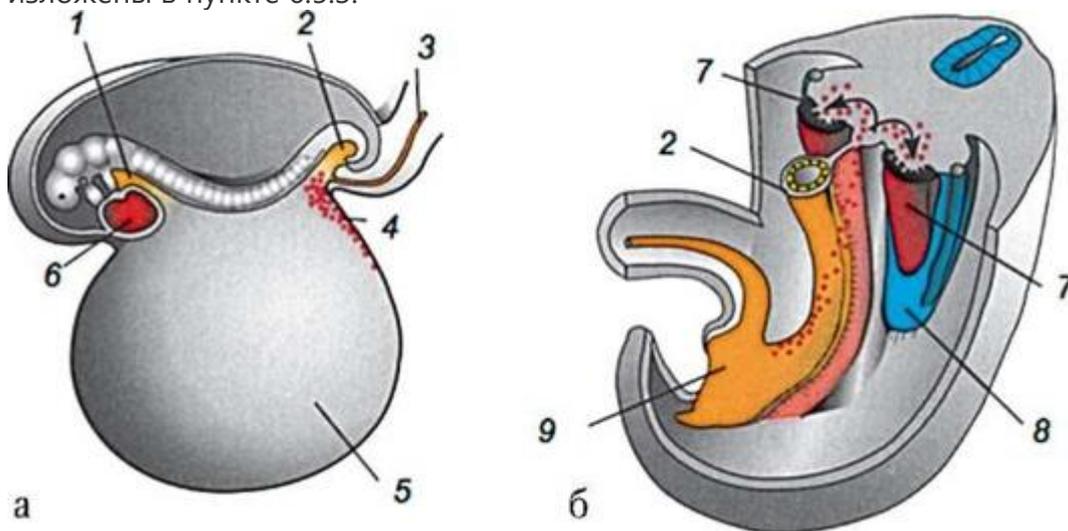


Рис. 7.1. Локализация первичных половых клеток у зародыша человека на стадии 16 сомитов (а) и их миграция в закладки гонад (б): 1 - передняя кишка; 2 - задняя кишка; 3 - аллантаис; 4 - первичные половые клетки; 5 - желточный мешок; 6 - сердце; 7 - развивающаяся гонада (половой бугорок); 8 - первичная почка; 9 - клоака

Попав в гонады, первичные половые клетки начинают пролиферировать. Они делятся митозом и называются **ово(оо)гониями**. У большинства низших позвоночных ово(оо)гонии сохраняют способность к делению на протяжении всего репродуктивного периода, так, например, рыбы за один нерест выделяют тысячи яиц, земноводные - сотни. У высших позвоночных число яиц, которые вызревают одновременно, редко достигает 15, обычно их бывает меньше, иногда одно, чем можно объяснить и особенности ово(оо)генеза.

У человеческих эмбрионов женского пола ово(оо)гонии размножаются наиболее интенсивно между 2-м и 5-м месяцами внутриутробного периода развития, когда их число достигает примерно 7 млн. К 7-му месяцу многие ово(оо)гонии погибают, а сохранившиеся входят в профазу первого деления мейоза и останавливаются на стадии диакинеза. С наступлением полового созревания один овоцит ежемесячно овулирует, достигнув стадии метафазы второго деления мейоза. Для части яйцеклеток это происходит в момент наступления полового созревания, а для других - непосредственно перед менопаузой. Овоцит завершает мейоз лишь в том случае, если происходит оплодотворение.

7.2.2. СПЕЦИФИКА И ЗНАЧЕНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ЦИТОПЛАЗМЫ ЯЙЦЕКЛЕТКИ

Зрелая яйцеклетка, как правило, бывает крупнее ово(оо)гонии и любых других соматических клеток. В ходе ово(оо)генеза в цитоплазме яйцеклетки резервируется большое количество веществ, необходимых для ее созревания и обеспечения раннего эмбриогенеза. Так, в течение периода роста объем ово(оо)цита мыши увеличивается примерно в 40 раз, а овоцита лягушки - более чем в 400. Скорость синтеза веществ в ово-цитах значительно возрастает, что обусловлено

Источник KingMed.info

рядом особенностей. В созревающих яйцеклетках происходит амплификация (см. п. 2.4.3.4) отдельных генов (см. гл. 4), например генов рРНК. У амфибий (*Xenopus laevis*) в диплоидной клетке обнаруживается около 450 генов рРНК, а в ово(оо)ците - более миллиона. Кроме того, возрастает транскрипционная активность генома этих клеток. Так, скорость транскрипции в растущих ооцитах мыши в 10 раз выше, чем в соматических клетках.

Функциональная роль запасенных веществ различна.

Во-первых, это компоненты, необходимые для процессов репликации, транскрипции и трансляции, такие, как соответствующие ферменты, рибосомы, мРНК, тРНК и их предшественники.

Во-вторых, это набор специфических регуляторных веществ, которые обеспечивают координированное функционирование всех запасенных компонентов. К таким веществам относятся фактор дезинтеграции ядерной оболочки (с разрушения ядерной оболочки начинается прометафаза 1-го деления мейоза); фактор, вызывающий конденсацию хромосом; фактор, преобразующий ядро сперматозоида в пронуклеус и активирующий в нем синтез ДНК перед дроблением; цитостатический фактор CSF, ответственный за блок мейоза на стадии метафазы II (у многих позвоночных снятие этого блока происходит только в результате оплодотворения); система микрофиламентов цитоскелета, вовлеченная в поддержание блока

мейоза; циклические нуклеотиды (например, цАМФ), протеинкиназы и другие вещества, необходимые для передачи сигналов от окружающих ово(оо)цит клеток и внеклеточной среды; компоненты так называемой инозитолфосфатной системы, обеспечивающие активацию яйцеклетки после оплодотворения; фактор, ответственный за цитотомию во время дробления. Некоторые из них, будучи в овоците уже к моменту оплодотворения, начинают действовать только в фазе гастрюляции.

В-третьих, это желток, в состав которого входят белки, фосфолипиды, нейтральные жиры, углеводы, минеральные соли. Желток представляет собой запас питательных веществ и энергетических ресурсов, необходимых для обеспечения эмбрионального периода. Многие вещества, вырабатываемые печенью, попадают в ово(оо)гонии в период их роста через фолликулярные клетки яичника. Это требует от самки больших энергетических затрат.

В-четвертых, это специфические вещества, называемые **морфогенетическими детерминантами**, довольно жестко определяющие судьбу клеток (бластомеров), в которые они попадают в ходе дробления. Подобные вещества обнаруживаются в цитоплазме яйцеклеток не у всех животных.

Благодаря описанным особенностям химического состава цитоплазмы яйцеклетки зародыш на протяжении периода дробления в ряде случаев не использует для развития генетическую информацию ядер зиготы и бластомеров. Специфический химический состав и закономерное распределение веществ в цитоплазме яйцеклетки имеют большое значение для начальных фаз эмбриогенеза. Запасенные питательные и энергетические вещества обеспечивают эмбриональное развитие без дополнительного поступления их извне.

7.2.3. РАЗМЕР ЯИЦ И ИХ РОЛЬ В ЭВОЛЮЦИИ. ТИПЫ ЯЙЦЕКЛЕТОК

В процессе развития выявляется закономерность, заключающаяся в том, что чем длиннее эмбриональный период, тем больше желтка должно быть накоплено в яйцеклетке.

Продолжительность эмбрионального периода зависит от стадии, на которой зародыш переходит к самостоятельному существованию во внешней среде. Если постэмбриональное развитие прямое, т.е. без личинки и метаморфоза, то желтка в яйцеклетке должно быть больше. По

количеству желтка яйцеклетки хордовых (табл. 7.1) делят на **алецитальные, олиго-, мезо- и полилецитальные**, т.е. с ничтожно малым, малым, средним и большим количеством желтка (от греч. **лецитос** - желток) (табл. 7.2).

Таблица 7.1. Систематика типа Хордовые

Подтипы		Классы		
Полухордовые		Кишечнодышащие (Баланоглосс)		
Личиночнохордовые		Асцидии		
Бесчерепные		Головохордовые (Ланцетники)		
Позвоночные (Черепные)	Раздел Бесчелюстные		Круглоротые	Анамнии
	Раздел	Надкласс Рыбы	Хрящевые рыбы	
			Костные рыбы	
	Челюстно-ротые	Надкласс Четвероногие	Амфибии	Амниоты
			Рептилии Птицы	
		Млекопитающие		

Таблица 7.2. Типы яйцеклеток, встречающиеся у хордовых

Представители типа Хордовые	В зависимости от количества желтка	В зависимости от распределения желтка
Ланцетник	Олиголецитальная	Изолецитальная
Лягушка	Мезолецитальная	Умеренно телолецитальная
Птица	Полилецитальная	Резко телолецитальная
Плацентарные млекопитающие (человек)	Алецитальная	Изолецитальная

У **ланцетника**, представителя низших хордовых, яйцеклетка **олиголецитальная**. У большинства позвоночных в яйцеклетках содержится значительное количество желтка. Среди низших позвоночных (*Anamnia*) наиболее крупные яйца у миксин (кл. Круглоротые), у акул и химер (кл. Хрящевые рыбы) и у некоторых амфибий. У остальных **амфибий**, а также осетровых рыб яйцеклетки **мезолецитальные**, т.е. имеют среднее количество желтка. У высших позвоночных (*Amniota*), таких, как пресмыкающиеся, птицы и яйцекладущие млекопитающие, - **полилецитальные**, т.е. в яйцеклетке очень много желтка. Эмбриональное развитие у них протекает особенно долго.

Эта закономерность нарушена у сумчатых и **плацентарных** млекопитающих, которые имеют **олиго- и алецитальные** яйцеклетки соответственно. У сумчатых эмбрион выходит из яйцевых оболочек и матки при незавершенном органогенезе, переносится в сумку, где и продолжает развитие. У плацентарных, в том числе и человека, зародыш выходит из яйцевых оболочек еще раньше, на стадии бластоцисты, но затем переходит к внутриутробному существованию, где и завершает все основные периоды развития, подготавливающие его к появлению на свет. **Уменьшение** количества желтка в яйцеклетках млекопитающих можно назвать **вторичным**, поскольку их предки, освоившие наземную среду, имели, как и все амниоты, полилецитальные яйца.

7.2.4. ПОЛЯРНОСТЬ ЯЙЦЕКЛЕТОК

Полярность яйцеклеток намечается еще на стадии накопления желтка в ово(оо)цитах во время их быстрого (большого) роста и закрепляется при выделении полярных (редукционных) телец. После выделения второго редукционного тельца полярность становится устойчивой и необратимой, что доказывается опытами Геррье по центрифугированию яйцеклеток на разных стадиях их созревания. Полюс, на котором выделяются редукционные тельца, называется **анимальным**, а противоположный ему - **вегетативный**. Полюса яйцеклетки отличаются по многим параметрам: концентрации различных веществ, количеству органоидов, активности протекания внутриклеточных процессов и ряду других. Так, эксперименты последних

Источник KingMed.info

лет с применением вибрирующих электродов выявили электрические поля вокруг ово(оо)цитов и яйцеклеток ряда животных и растений и протекание через их цитоплазму электрических токов. Считают, что это обусловлено разной концентрацией ионных каналов и насосов на противоположных полюсах яйцеклеток. В яйце шпорцевой лягушки на анимальном полюсе выше концентрация ионных каналов, а на вегетативном - насосов.

Накопление яйцевой клеткой желтка - первое проявление ее поляризации. При малом количестве желтка в яйцеклетке он обычно распределен в цитоплазме равномерно, и ядро располагается примерно в центре. Такие яйцеклетки называют **изолецитальными** (от греч. **изос** - равный). У большинства позвоночных желтка много, и он распределен в цитоплазме яйцеклетки неравномерно. Это **анизолецитальные** клетки. Основная масса желтка скапливается у **вегетативного полюса**. Такие яйцеклетки называют **телолецитальными** (от греч. **телос** - конец). К противоположному **анимальному** полюсу оттесняется свободная от желтка активная цитоплазма. Если желток все же погружен в цитоплазму и не обособлен от нее в виде отдельной фракции, как у осетровых и земноводных, яйцеклетки называют **умеренно телолецитальными**. Если желток полностью отделен от цитоплазмы, как у амниот, то это **резко телолецитальные** яйцеклетки.

Особенности размеров и полярности яйцеклеток хордовых схематично сгруппированы в табл. 7.2.

В процессах поляризации яйцеклетки, по-видимому, принимает участие и **кортикальный слой** - это поверхностный слой цитоплазмы яйца, расположенный непосредственно под плазматической мембраной. В нем находятся микрофиламенты и **кортикальные гранулы**. Последние содержат целый спектр веществ, участвующих в формировании оболочки оплодотворения и препятствующих полиспермии. Наблюдаемая после оплодотворения сборка и перераспределение элементов цитоскелета кортикального слоя обеспечивают приобретение им сократимости, что необходимо для осуществления делений дробления зиготы. У большинства животных первые две борозды дробления проходят по взаимно перпендикулярным анимально-вегетативным плоскостям (меридианам, соединяющим анимальный и вегетативный полюсы). В целом, на анимальном полюсе яйцеклетки, как правило, больше свободной цитоплазмы, органоидов, запасенных РНК, обычно ядро также располагается на анимальном полюсе или ближе к нему. Вегетативный полюс характеризуется преобладанием гранул желтка.

Поляризация яйцеклетки сопровождается возникновением **ово(оо)-плазматической сегрегации** яйца, т.е. созданием внутренней разно-качественности участков цитоплазмы яйцеклетки.

Анимально-вегетативная поляризация яйца имеет решающее значение для всех последующих процессов эмбриогенеза, так как определяет будущую пространственную организацию зародыша. У взрослых животных переднезадняя ось тела совпадает с анимально-вегетативной осью яйцеклетки (например, у позвоночных) или перпендикулярна ей (например, у малощетинковых червей и некоторых членистоногих).

7.2.5. ЯЙЦЕВЫЕ ОБОЛОЧКИ

Яйцеклетки снаружи покрыты одной или несколькими оболочками, которые в дальнейшем выполняют в том числе и функцию защиты развивающегося зародыша.

Различают **первичную оболочку**, образуемую самой яйцевой клеткой, **вторичную оболочку** - продукт деятельности фолликулярных клеток яичников, и **третичные оболочки**, которыми яйцо окружается во время прохождения по яйцеводу.

Первичная оболочка, иногда называемая **желточной**, имеется у яйцеклеток всех животных. У позвоночных, в том числе млекопитающих, первичная оболочка входит в состав плотной оболочки, образуя ее внутреннюю часть. **Внешнюю часть плотной оболочки** продуцируют фолликулярные клетки - это **вторичная оболочка**. Плотная оболочка изнутри пронизана микроворсинками яйцеклетки, а снаружи - микроворсинками фолликулярных клеток. За свои оптические свойства у млекопитающих она получила название **блестящей оболочки** (*zona pellucida*). Таким образом, эта оболочка **совмещает в себе первичную и вторичную**. Поверх блестящей оболочки яйцеклетки находится **лучистый венец** (*corona radiata*), образованный из фолликулярных клеток, которые прилипают к яйцеклетке, пока она находится в фолликуле яичника (рис. 7.2).

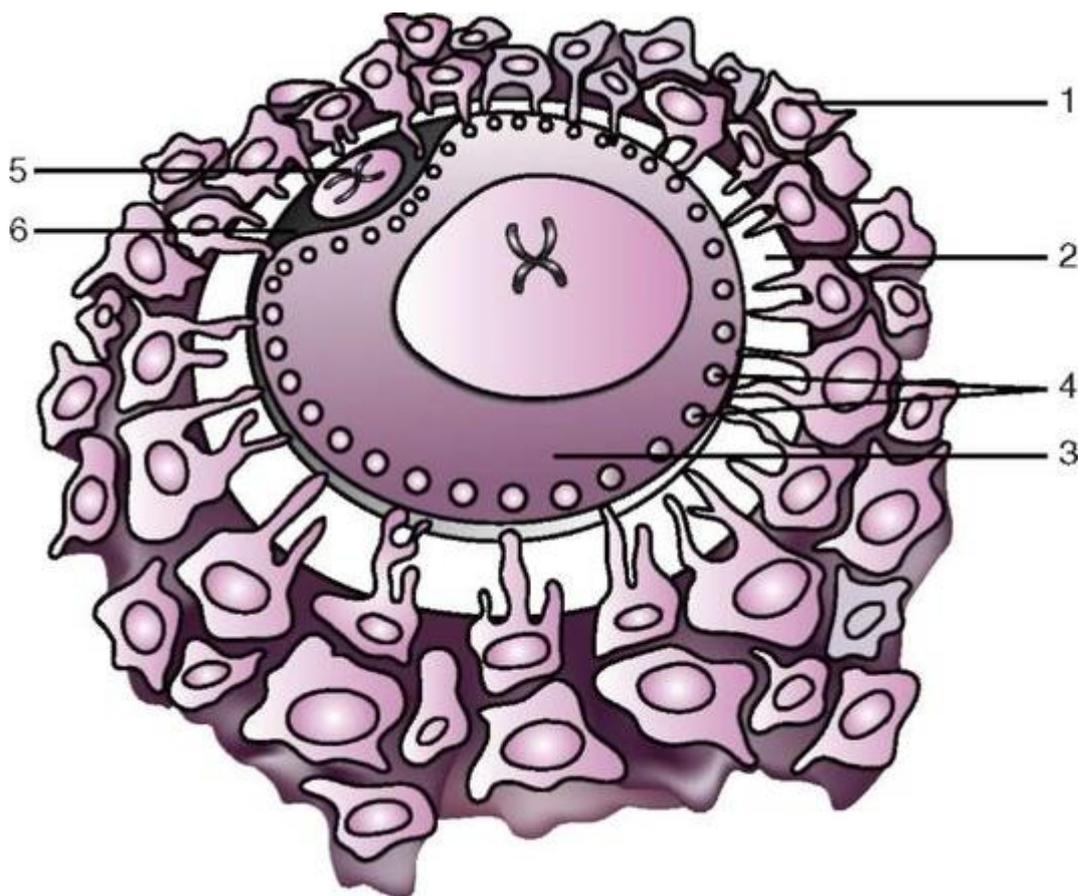


Рис. 7.2. Яйцеклетка (овоцит I порядка) млекопитающих: 1 - лучистый венец; 2 - блестящая оболочка; 3 - цитоплазма; 4 - кортикальные гранулы; 5 - полярное тельце; 6 - околожелточное пространство

Блестящая оболочка представляет собой сложный комплекс внеклеточных гликопротеинов, которые у млекопитающих обозначаются *ZP*. У мышей он состоит из трех различных сульфатированных гликопротеинов - *ZP1*, *ZP2*, *ZP3*. С помощью *ZP3* сперматозоиды связываются с блестящей оболочкой, а после проникновения одного спермия этот гликопротеин модифицируется, и проникновение других спермиев становится невозможным. Кроме того, гликопротеины видоспецифичны, что предотвращает межвидовое оплодотворение. У других хордовых видоспецифичность оплодотворения определяется взаимодействием белков спермия с рецепторами **желточной оболочки**. Блестящая оболочка не примыкает непосредственно к мембране яйца, а отделяется **перивителлиновым (околожелточным) пространством**. Вслед за проникновением первого сперматозоида в яйцеклетку в это пространство попадает овопероксидаза кортикальных гранул. Считают, что действие этого фермента

Источник KingMed.info

модифицирует *ZP3* и *ZP2*, что приводит к затвердеванию блестящей оболочки. Она сохраняется вокруг зародыша на протяжении всего доимплантационного периода или в значительной части этого периода. Блестящая оболочка препятствует слипанию соседних зародышей и прилипанию зародышей к стенкам яйцевода и матки. Известно, что на начальных стадиях дробления вплоть до бластоцисты, бластомеры обладают высокой ад-гезивностью. Если трансплантировать зародыш, лишенный блестящей оболочки, в яйцевод, то неминуемо происходит адгезия бластомеров к стенке яйцевода, и зародыш погибает. Кроме того, благодаря блестящей оболочке бластомеры располагаются компактно и упорядоченно, что способствует образованию контактов и взаимодействию между ними и обеспечивает нормальное развитие зародыша на этой стадии. Если оболочку удалить, то дробление продолжится, но бластомеры будут располагаться в виде цепочки и их компактизация нарушится полностью или будет сильно запаздывать.

Третичные оболочки хорошо развиты у хрящевых рыб и амфибий, но особенную сложность они приобретают у наземных позвоночных - пресмыкающихся, птиц и низших млекопитающих. Образываясь **из секретов желез яйцевода**, эти оболочки не имеют клеточного строения. У всех позвоночных они выполняют функции защиты зародыша от механических повреждений и действия вредных биотических факторов, таких, как бактериальные, грибковые и протозойные. Кроме того, у наземных позвоночных появляются принципиально новые функции запасания воды и питательных веществ для обеспечения нужд зародыша. У пресмыкающихся скорлуповая оболочка действует как насос, забирая воду из почвы и воздуха. У птиц запас воды находится в **белковой оболочке**. Поглощение и испарение воды регулируется порами в скорлуповой оболочке. Скорлупа содержит множество минеральных солей, необходимых для развития скелета зародыша.

7.3. ОПЛОДОТВОРЕНИЕ И ПАРТЕНОГЕНЕЗ

Оплодотворение - это процесс слияния половых клеток, завершающийся объединением их генетического материала. Образующаяся в результате оплодотворения диплоидная клетка - **зигота** - представляет собой начальный этап развития нового организма.

Процесс оплодотворения складывается из трех последовательных фаз:

- дистантного взаимодействия и сближения гамет;
- контактного взаимодействия гамет и активизации яйцеклетки;
- слияния гамет, или сингамии.

Сближение сперматозоида с яйцеклеткой обеспечивается совокупностью неспецифических факторов, повышающих вероятность их встречи и взаимодействия. К ним относят скоординированность наступления готовности к оплодотворению у самца и самки, поведение самцов и самок, обеспечивающее совокупление и осеменение, избыточную продукцию сперматозоидов, крупные размеры яйцеклетки, а также вырабатываемые яйцеклетками и сперматозоидами химические вещества, способствующие сближению и взаимодействию половых клеток. Эти вещества, называемые **гамонами** (гормоны гамет), с одной стороны, активируют движение сперматозоидов, а с другой - их склеивание. В движении сперматозоидов млекопитающих по верхним отделам яйцевода существенное значение имеет явление **реотаксиса**: их способности двигаться против встречного течения жидкости в маточных трубах.

Источник KingMed.info

У млекопитающих большое значение имеет пребывание сперматозоидов в половых путях самки, в результате чего происходит **капацитация спермиев** - приобретение ими оплодотворяющей способности. Сразу после попадания в половые пути самки спермии неспособны к проникновению в яйцеклетки. Под действием веществ секрета женских половых путей с плазмолеммы спермия в области акросомы удаляются гликопротеины и протеины семенной плазмы, которые блокируют активные центры рецепторных молекул плазмолеммы спермия, узнающие поверхность женской половой клетки. Кроме того, молекулы альбуминов, находящиеся в женском половом тракте, связываются с холестерином клеточной мембраны сперматозоидов. Это приводит к дестабилизации плазмолеммы спермия и его акросомальной мембраны, что облегчает последующее высвобождение ферментов акросом. Было обнаружено также, что в процессе капацитации изменяются свойства поверхности сперматозоидов, например ее заряд. Кроме того, происходят изменение подвижности (гиперактивация) сперматозоидов и активация акросомальных ферментов. У человека капацитация длится около 7 ч.

В фазе **контактного взаимодействия** спермий разрушает оболочки яйцеклетки (у млекопитающих - лучистый венец, прозрачную оболочку) и цитоплазматическую мембрану овоцита вследствие **акросомной реакции**. При контакте с оболочкой женской половой клетки под действием ее активирующих веществ (одно из которых - фертилизин), инициируется активное поступление катионов кальция в головку спермия. В результате происходят очаговые слияния клеточной и акросомальной мембран сперматозоида и их частичное разрушение. Через образовавшиеся микроотверстия выделяются ферменты спермия - гиалуронидаза, пенетраза и другие, которые разобщают контакты между клетками лучистого венца, а также между ними и овоцитом. Акросомальный фермент акрозин разрушает участок блестящей оболочки женской половой клетки, и спермий проникает в околожелточное пространство. В месте соприкосновения головки спермия с плазмолеммой овоцита происходят слияние и последующее разрушение мембран женской и мужской гамет. Через образующийся вследствие этого цитоплазматический мостик цитоплазмы обеих гамет объединяются. Затем в цитоплазму яйца переходят ядро и центриоль сперматозоида, а мембрана сперматозоида встраивается в мембрану яйцеклетки. Хвостовая часть сперматозоида либо остается снаружи, либо тоже входит в яйцо, но потом отделяется и рассасывается, не играя какой-либо роли в дальнейшем развитии. Через участок мембраны сперматозоида в цитоплазму яйцеклетки начинают активно поступать ионы натрия, вследствие чего мембранный потенциал овоцита резко меняется, и женская половая клетка становится невосприимчивой к контактам с другими спермиями - **быстрый блок полиспермии**. Приток ионов натрия обуславливает высвобождение ионов кальция из внутриклеточных депо и увеличение его содержания в цитоплазме яйцеклетки, которое распространяется в виде волны от точки соприкосновения гамет. Вслед за этим начинается **кортикальная реакция**: мембраны кортикальных гранул сливаются с мембраной яйцеклетки и высвобождающиеся из них протеолитические ферменты попадают в околожелточное пространство. Под влиянием ферментов оболочка яйца уплотняется, утолщается, теряет рецепторные белки к сперматозоидам и превращается в **оболочку оплодотворения**. Кроме того, выделяемый из кортикальных гранул гликопротеид способствуют отслойке желточной оболочки от плазмолеммы яйцеклетки. В результате всего перечисленного проникновение других спермиев становится невозможным - **медленный блок полиспермии**. У млекопитающих кортикальная реакция не вызывает образования оболочки оплодотворения, но суть ее та же.

Источник KingMed.info

В результате контакта сперматозоида с яйцеклеткой происходит ее **активация**. Она заключается в сложных структурных и физико-химических изменениях. Начальный этап активации - описанная выше кортикальная реакция. У таких животных, как иглокожие, костистые рыбы и земноводные, изменения цитоплазмы яйцеклетки сопровождаются видимыми морфологическими перестройками. Эти явления получили название расслоения или **сегрегации плазмы**. Значение ее для дальнейшего эмбрионального развития будет рассмотрено ниже. У многих видов бесхвостых амфибий проникновение сперматозоида в яйцеклетку приводит к **перемещению пигментных гранул** анимального полюса, и против места проникновения спермия появляется слабо окрашенная серповидная область, называемая «**серым серпом**» (рис. 7.3).

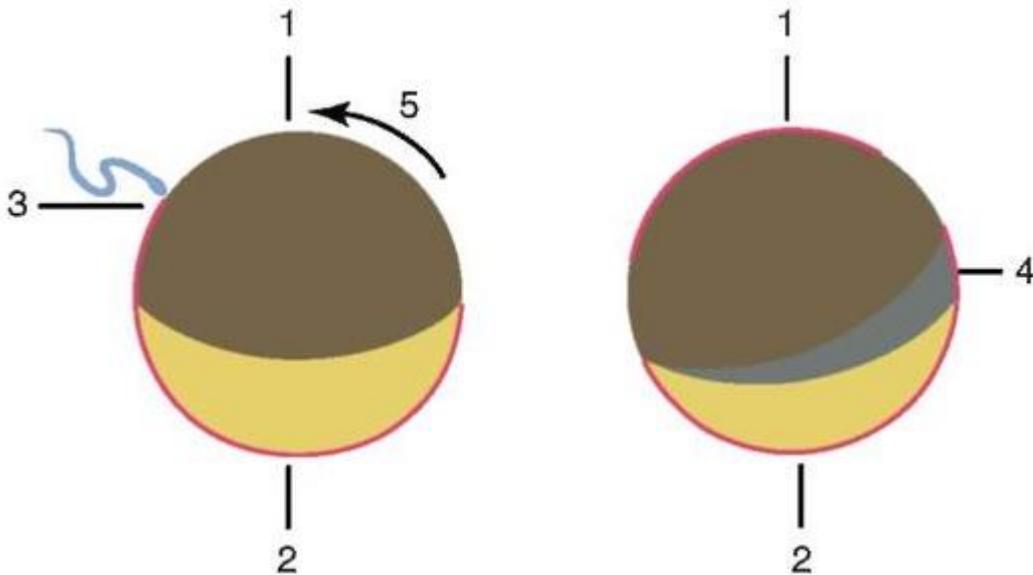


Рис. 7.3. Сегрегация цитоплазмы яйца амфибий после проникновения спермия: 1 - анимальный полюс; 2 - вегетативный полюс; 3 - место внедрения сперматозоида; 4 - серый серп; 5 - направление перемещения цитоплазмы с пигментными гранулами

Активация яйцеклетки завершается началом синтеза белка на трансляционном уровне, поскольку мРНК, тРНК, рибосомы и энергия были запасены еще в ово(оо)генезе. Активация яйцеклетки может начаться и протекать до конца без ядра сперматозоида и без ядра яйцеклетки, что доказано опытами по энуклеации зиготы.

Яйцеклетка в момент встречи со сперматозоидом обычно находится на одной из стадий мейоза, заблокированной с помощью специфического фактора. У большинства позвоночных этот блок осуществляется на стадии метафазы II; у многих беспозвоночных, а также у трех видов млекопитающих (лошади, собаки и лисицы) блок происходит на стадии диакинеза (профаза I). В большинстве случаев блок мейоза снимается после активации яйцеклетки вследствие оплодотворения. В то время как в яйцеклетке завершается мейоз, ядро сперматозоида, проникшее в нее, видоизменяется. Оно принимает вид интерфазного, а затем профазного ядра. За это время удваивается ДНК, и количество наследственного материала в **мужском пронуклеусе** становится **$n2c$** , т.е. он содержит гаплоидный набор редуцированных хромосом.

Ядро яйцеклетки, закончившее мейоз, превращается в **женский пронуклеус**, также приобретая **$n2c$** . Оба пронуклеуса проталкиваются, затем сближаются и сливаются (**синкарион**), образуя общую метафазную пластинку. Это, собственно, и есть момент

Источник KingMed.info

окончательного слияния гамет - **сингамия**. Первое митотическое деление зиготы приводит к образованию двух клеток зародыша (бластомеров) с набором хромосом **2n2c** в каждом. В некоторых случаях развитие происходит без оплодотворения - **партеногенез** (от греч. **партенос** - девственница). В случае **естественного партеногенеза** развитие идет на основе цитоплазмы и пронуклеуса яйцеклетки. Особи, формирующиеся из яйцеклетки, имеют либо гаплоидный, либо диплоидный набор хромосом, так как срабатывает один из механизмов удвоения числа хромосом. В одних случаях в ходе мейоза женской половой клетки выпадает стадия редукции числа хромосом, и яйцеклетка получается с диплоидным пронуклеусом. В других случаях диплоидизация происходит во время первого деления дробления, при котором не происходит цитотомии.

Естественный партеногенез, как правило, не бывает единственным способом размножения вида. Он либо чередуется с нормальным половым размножением, либо встречается у отдельных **рас**. Естественный партеногенез обнаружен у летних поколений некоторых ракообразных и коловраток, у пчел, ос, ряда чешуекрылых. Среди позвоночных партеногенетическое размножение описано у трех рас скальной ящерицы Армении, состоящих из одних самок. 40% яиц индеек, отложенных в отсутствие самца, могут начать развиваться, однако это развитие редко доходит до конца, чаще останавливается из-за возникающих аномалий. У других видов позвоночных естественное партеногенетическое размножение неизвестно.

Искусственный партеногенез возможен, по-видимому, у всех животных. Разработка методов партеногенетического развития - важная проблема в научном и прикладном отношении. Большой вклад в эту проблему внесли отечественные исследователи А.А. Тихомиров, Б.Л. Астауров, В.А. Струнников. Обнаружено, что активация яйцеклетки сперматозоидом не является специфической. В качестве активирующих могут выступать многие физические и химические факторы. На тутовом шелкопряде было показано, что с помощью искусственного партеногенеза можно регулировать соотношение мужского и женского пола в популяции, получая большой экономический эффект.

Естественный партеногенез чаще всего случается при незавершенном оплодотворении, т.е. в тех случаях, когда имела место активация яйцеклетки, но ядро сперматозоида не участвовало в оплодотворении. В активированных яйцах используется информация только женского пронуклеуса. Такой вид партеногенеза называют **гиногенезом**. При искусственном партеногенезе можно удалить женский пронуклеус, и тогда развитие осуществится только за счет мужских пронуклеусов. Это **андрогенез**. В специальных опытах на морских ежах было установлено, что потомки наследуют либо только признаки матери при гиногенезе, либо только признаки отца - при андрогенезе. Это указывает на то, что наследственные свойства особи определяются в основном ядром, а не цитоплазмой.

7.4. эмбриональное развитие

7.4.1. ДРОБЛЕНИЕ

7.4.1.1. Сущность стадии дробления

Дробление - это ряд последовательных митотических делений зиготы и образующихся бластомеров, заканчивающийся формированием **многоклеточного однослойного зародыша - бластулы**. Первое деление дробления начинается после объединения наследственного материала пронуклеусов и образования общей метафазной пластинки. Возникающие при дроблении клетки называют **бластомерами** (от греч. **бласте** - росток,

Источник KingMed.info

зачаток). Особенность митотических циклов дробления - то, что с каждым делением клетки становятся все мельче и мельче, пока не достигнут обычного для соматических клеток соотношения объемов ядра и цитоплазмы. У морского ежа, например, для этого требуется 6 делений, и зародыш состоит из 64 клеток. Между очередными делениями не происходит роста клеток (период G_1 отсутствует), но обязательно синтезируется ДНК. Все предшественники ДНК и необходимые ферменты накоплены в процессе овогенеза. В результате митотические циклы укорочены, и деления следуют друг за другом значительно быстрее, чем в обычных соматических клетках. После нескольких циклов деления образовавшиеся бластомеры прилегают друг к другу, образуя скопление клеток, называемое **морулой**. Затем между клетками образуется полость - **бластоцель**, заполненная жидкостью. Клетки оттесняются к периферии, формируя стенку бластулы - **бластодерму**. Вследствие отсутствия роста бластомеров в период дробления общий размер зародыша на стадии бластулы не превышает размера зиготы.

7.4.1.2. Морфология дробления

Как правило, бластомеры располагаются в строгом порядке друг относительно друга и полярной оси яйца. Порядок, или способ дробления, зависит от количества, плотности и характера распределения желтка в яйце. По правилам Сакса-Гертвига, клеточное ядро стремится расположиться в центре свободной от желтка цитоплазмы, а веретено клеточного деления - в направлении наибольшей протяженности этой зоны.

В олиго- и мезолецитальных яйцах дробление **полное**, или **голобластическое**. Такой тип дробления встречается у ланцетников, миног, некоторых рыб, всех амфибий, а также у сумчатых и плацентарных млекопитающих. При полном дроблении плоскость первого деления соответствует плоскости двусторонней симметрии. Плоскость второго деления проходит перпендикулярно плоскости первого. Обе борозды первых двух делений меридианные, т.е. начинаются на анимальном полюсе и распространяются к вегетативному полюсу. Яйцевая клетка оказывается разделенной на четыре более или менее равных по размеру бластомера. Плоскость третьего деления проходит перпендикулярно первым двум в широтном направлении. У животных, имеющих изолецитальные яйца, все восемь образующихся бластомеров оказываются примерно равными - **равномерное дробление**. В мезолецитальных яйцах проявляется **неравномерность** дробления. На анимальном полюсе четыре более мелких бластомера - **микроммеры**, на вегетативном - четыре более крупных - **макроммеры**. Затем деление опять идет в меридианных плоскостях, а потом опять в широтных.

В полилецитальных яйцеклетках костистых рыб, пресмыкающихся, птиц, а также однопроходных млекопитающих дробление **частичное**, или **меробластическое**, т.е. охватывает только свободную от желтка цитоплазму. Она располагается в виде тонкого диска на анимальном полюсе, поэтому такой тип дробления называют **дискоидальным**.

При характеристике типа дробления учитывают также взаимное расположение и скорость деления бластомеров. Если бластомеры располагаются рядами друг над другом по радиусам, дробление называют **радиальным**. Оно типично для хордовых и иглокожих. В природе встречаются и другие варианты пространственного расположения бластомеров при дроблении, что определяет такие его типы, как **спиральное** у моллюсков, **билатеральное** у аскариды, **анархичное** у медузы.

Замечена зависимость между распределением желтка и степенью синхронности деления анимальных и вегетативных бластомеров. В олиголецитальных яйцах иглокожих и головохордовых дробление почти синхронное, в мезолецитальных яйцах, например у амфибий, синхронность нарушена после третьего деления, так как вегетативные бластомеры из-за

большого количества желтка делятся медленнее. У организмов с частичным дроблением (рептилии, птицы) деления с самого начала асинхронны и бластомеры, занимающие центральное положение, делятся быстрее.

К концу дробления образуется **бластула**. Тип бластулы зависит от типа дробления, а значит, от типа яйцеклетки. Некоторые типы дробления и бластул представлены на рис. 7.4 и схеме (в таблице) 7.1. Более подробное описание дробления у млекопитающих, в том числе человека, см. пункт 7.5.1.

Таблица 7.3. Типы дробления и типы бластул хордовых

Полное (голобластическое)			Неполное (меробла-стическое)
Равномерное синхронное	Неравномерное асинхронное	Неравномерное асинхронное	Дискоидальное асинхронное
Целобластула (ланцетник)	Амфибластула (лягушка)	Бластоциста (человек)	Дискобластула (рептилии, птицы)

7.4.1.3. Особенности молекулярно-генетических и биохимических процессов при дроблении

Как было отмечено выше, митотические циклы в периоде дробления сильно укорочены, особенно в самом начале. Например, весь цикл деления в яйцах морского ежа длится 30-40 мин при продолжительности *S-фазы* всего 15 мин.

G_1 -, а у многих животных и G_2 -периоды практически отсутствуют, так как в цитоплазме яйцеклетки создан необходимый запас всех веществ, и тем больший, чем она крупнее. Показано, что при удалении из зиготы ядра дробление происходит и зародыш доходит в своем развитии почти до стадии бластулы. Дальнейшее развитие прекращается.

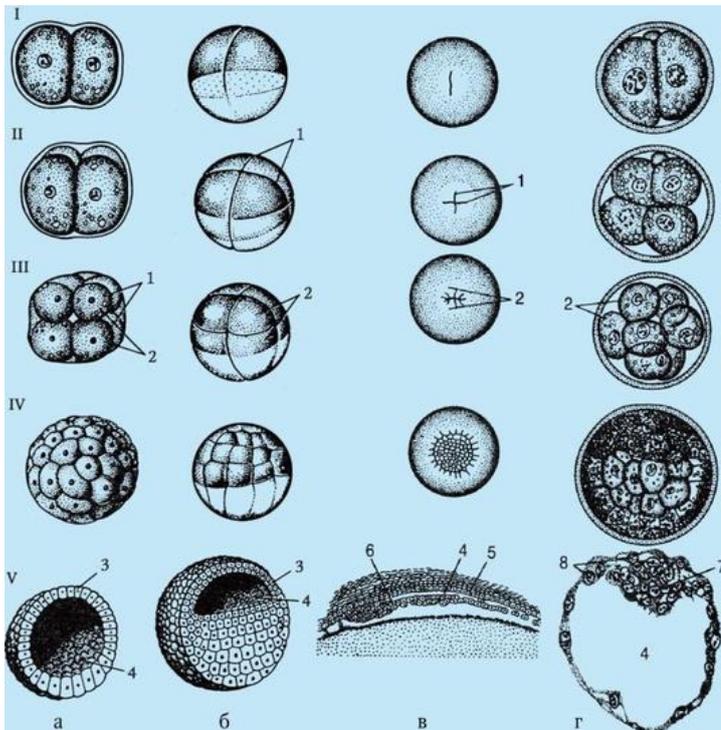


Рис. 7.4. Дробление у хордовых животных с разным типом яйцеклетки: а - ланцетник; б - лягушка; в - птица; г - млекопитающее: I - 2 бластомера; II - 4 бластомера; III - 8 бластомеров; IV - морула; V - бластула; 1 - борозды дробления; 2 - бластомеры; 3 - бластодерма; 4 - бластоцель; 5 - эпибласт; 6 - гипобласт; 7 - эмбриобласт; 8 - трофобласт; размеры зародышей на рисунке не отражают истинных размеров зародышей

Источник KingMed.info

Перед каждым делением происходит синтез ДНК и гистонов, однако длительность *S-периода* сокращена. При дроблении в ходе репликации ДНК скорость продвижения репликационной вилки обычная. Вместе с тем в ДНК бластомеров наблюдается больше точек инициации, чем в соматических клетках, поэтому репликоны более короткие. Синтез ДНК идет во всех репликонах одновременно (синхронно). Поэтому время репликации ДНК в ядре совпадает со временем удвоения одного, притом укороченного, репликона.

В начале дробления другие виды ядерной активности, например транскрипция, практически отсутствуют. В разных типах яиц транскрипция генов и синтез РНК начинаются на разных стадиях. В тех случаях, когда в цитоплазме много различных веществ, как, например, у земноводных, транскрипция активируется не сразу. Синтез РНК у них начинается на стадии ранней бластулы. Напротив, у млекопитающих синтез РНК начинается уже на стадии двух бластомеров.

В периоде дробления образуются РНК и белки, аналогичные синтезируемым в процессе овогенеза. В основном это гистоны, белки клеточных мембран и ферменты, необходимые для деления клеток. Эти белки используются сразу же наравне с запасенными ранее в цитоплазме яйцеклеток. Наряду с этим в период дробления возможен синтез белков, которых не было ранее, в пользу чего свидетельствуют данные о наличии региональных различий в синтезе РНК и белков между бластомерами. Иногда эти вещества начинают действовать на более поздних стадиях.

Важную роль в дроблении играет деление цитоплазмы - **цитотомия**. Она имеет особое морфогенетическое значение, так как определяет тип дробления. В процессе цитотомии сначала образуется перетяжка с помощью сократимого кольца из микрофиламентов. Сборка этого кольца проходит под непосредственным влиянием полюсов митотического веретена. После цитотомии бластомеры олиголецитальных яиц остаются связанными между собой лишь тоненькими мостиками. Именно в это время их легче всего разделить. Это происходит потому, что цитотомия ведет к уменьшению зоны контакта между клетками из-за ограниченной площади поверхности мембран.

Сразу после цитотомии начинается синтез новых участков клеточной поверхности, зона контакта увеличивается, и бластомеры начинают плотно соприкасаться, что обеспечивает возможность межклеточного взаимодействия. Борозды дробления проходят по границам между отдельными участками овоплазмы, поэтому цитоплазма разных бластомеров различается по химическому составу. Это отражает явление **овоплазматической сегрегации**.

Основным результатом периода дробления становится превращение одноклеточного зародыша - зиготы - в **многоклеточный** и **однослойный** зародыш - бластулу. Помимо этого в ходе дробления происходят образование **межклеточных контактов** и увеличение их площади, распределение различных участков цитоплазмы зиготы между разными бластомерами зародыша, постепенная активация собственного генома зародыша, восстановление ядерно-цитоплазматического соотношения, характерного для соматических клеток. На стадии дробления все клетки зародыша однородны в отношении функционального состояния генетического аппарата. Различия цитоплазмы бластомеров и межклеточные взаимодействия детерминируют (предопределяют) направление дальнейшего развития клеток.

7.4.2. ГАСТРУЛЯЦИЯ

7.4.2.1. Сущность стадии гастрюляции

Источник KingMed.info

Сущность стадии гастрюляции заключается в том, что однослойный зародыш - бластула - превращается в **многослойный** - **двух-** или **трехслойный**, называемый **гаструлой** (от греч. **гастер** - желудок и уменьшительного суффикса «ул»).

У примитивных хордовых, например у ланцетника, однородная однослойная бластодерма во время гастрюляции преобразуется в наружный зародышевый листок - **эктодерму** - и внутренний зародышевый листок - **энтодерму**. Энтодерма формирует первичную кишку с полостью внутри - **гастроцель**. Отверстие, ведущее в гастроцель, называют **бластопором** или первичным ртом. **Два зародышевых листка** являются определяющим морфологическим признаком гастрюляции. Их существование на определенной стадии развития у всех многоклеточных животных, начиная с кишечнополостных и кончая высшими позвоночными, позволяет думать о гомологии зародышевых листков и единстве происхождения всех этих животных.

У позвоночных помимо двух упомянутых зародышевых листков во время гастрюляции образуется еще третий - **мезодерма**, занимающая место между экто- и энтодермой. Развитие среднего зародышевого листка, представляющего собой **хордомезодерму**, - эволюционное усложнение фазы гастрюляции у позвоночных, связанное с ускорением у них развития на ранних стадиях эмбриогенеза. У более примитивных хордовых животных, таких, как ланцетник, хордомезодерма обычно образуется в начале следующей после гастрюляции фазы - **органогенезе**. Смещение времени развития одних органов относительно других у потомков по сравнению с предковыми группами является проявлением **гетерохронии**. Изменение времени закладки важнейших органов в процессе эволюции встречается достаточно часто.

Процесс гастрюляции характеризуется **важными, клеточными преобразованиями**, такими, как направленные перемещения групп и отдельных клеток, избирательное размножение и сортировка клеток, начало цитодифференцировки и индукционных взаимодействий.

Перечисленные клеточные механизмы онтогенеза подробно разбираются в п. 8.2.

Способы гастрюляции различны. Выделяют четыре разновидности направленных в пространстве перемещений клеток, приводящих к преобразованию зародыша из однослойного в многослойный (двухили трехслойный).

Инвагинация - впячивание одного из участков бластодермы внутрь целым пластом. У ланцетника впячиваются клетки вегетативного полюса, у земноводных инвагинация происходит на границе между анимальным и вегетативным полюсами в области серого серпа. Процесс инвагинации возможен только в яйцах с небольшим или средним количеством желтка.

Эпиболия - обрастание мелкими быстро делящимися клетками анимального полюса более крупных, отстающих в скорости деления и менее подвижных клеток вегетативного полюса. Такой процесс ярко выражен у земноводных.

Деламинация - расслоение клеток бластодермы на два слоя, лежащих друг над другом. Деламинацию можно наблюдать в дискобластуле зародышей с неполным дроблением таких животных, как пресмыкающиеся, птицы, яйцекладущие млекопитающие. Деламинация проявляется в эмбриобласте плацентарных млекопитающих, приводя к образованию гипобласта и эпибласта.

Иммиграция - перемещение групп или отдельных клеток, не объединенных в единый пласт. Иммиграция встречается у всех зародышей, но в наибольшей степени характерна для второй фазы гастрюляции высших позвоночных (рептилии, птицы и млекопитающие).

В каждом конкретном случае эмбриогенеза, как правило, сочетаются несколько способов гастрюляции.

7.4.2.2. Морфология гастрюляции

Более детальное рассмотрение гастрюляции у ланцетника, лягушки, цыпленка и млекопитающих поможет глубже понять эволюционные связи и разобраться в закономерностях индивидуального развития.

7.4.2.2-а. Гастрюляция ланцетника

Гастрюляция **ланцетника** показана на рис. 7.5. Разными маркерами на стадии бластулы (рис. 7.5, а) отмечены **презюмтивные** (предполагаемые) **зачатки**. Это области бластулы, из клеточного материала которых в ходе гастрюляции и раннего органогенеза (нейруляции) обычно образуются совершенно определенные зародышевые листки и органы (рис. 7.5, б и в).

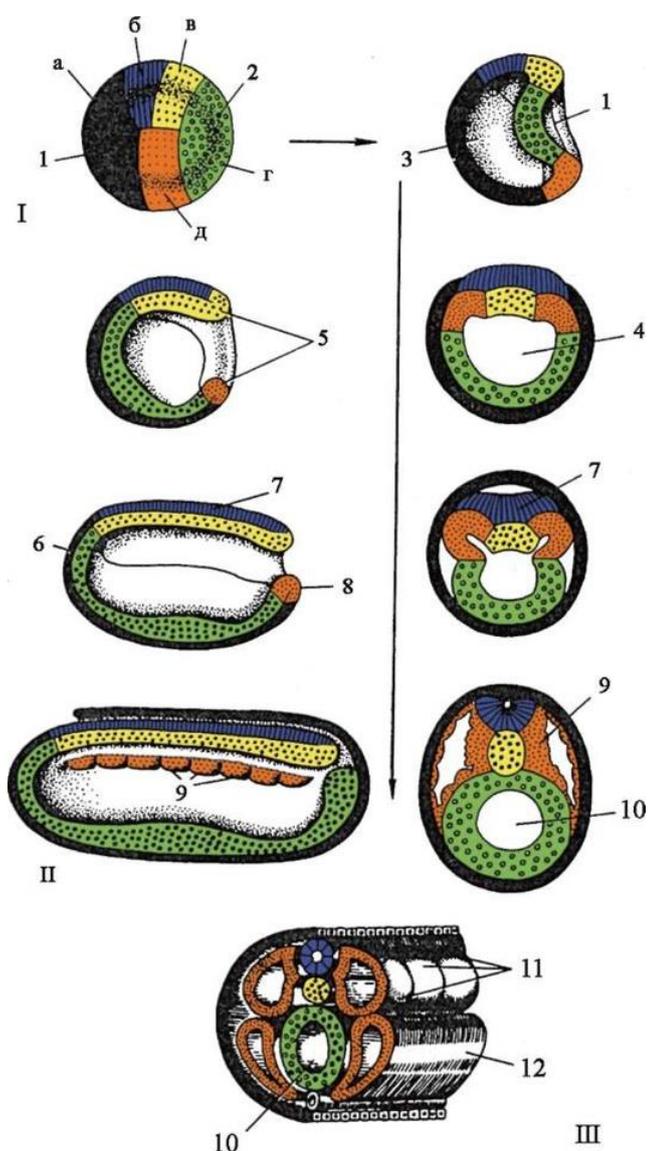


Рис. 7.5. Презюмтивные зачатки, гастрюляция и нейруляция у ланцетника. I - презюмтивные зачатки на стадии бластулы (вид снаружи) и ранней гастрюлы (вид на срезе); II - поздняя гастрюла и нейруляция на сагиттальном (левый ряд) и поперечном (правый ряд) разрезах; III - пластическая модель зародыша в конце периода нейруляции: 1 - анимальный полюс; 2 -

Источник KingMed.info

вегетативный полюс; 3 - бластоцель; 4 - гастрोцель; 5 - спинная и брюшная губы бластопора; 6 - головной конец зародыша; 7 - медуллярная пластинка; 8 - хвостовой конец зародыша; 9 - спинная часть мезодермы; 10 - полость вторичной кишки; 11 - сегментированные сомиты; 12 - брюшная часть мезодермы; а, б, в, г, д - обозначения презумптивных и развивающихся органов: а - эктодерма кожная; б - нервная трубка; в - хорда; г - энтодерма, эпителий кишки; д - мезодерма

Инвагинация начинается на вегетативном полюсе. Из-за более быстрого деления клетки анимального полюса разрастаются и толкают внутрь бластулы клетки вегетативного полюса. Этому способствует изменение состояния цитоплазмы в клетках, образующих губы бластопора и прилежащих к ним. Вследствие инвагинации бластоцель уменьшается, а гастроцель увеличивается. Одновременно с исчезновением бластоцели эктодерма и энтодерма приходят в тесный контакт. У ланцетника, как и у всех **вторичноротых животных** (к ним относят тип Иглокожие, тип Хордовые и некоторые другие относительно малочисленные типы животных), область бластопора превращается в хвостовую часть организма, в отличие от первичноротых, у которых бластопор соответствует головной части. **Ротовое отверстие у вторичноротых** образуется на противоположном бластопору конце зародыша.

7.4.2.2-б. Гастрюляция у земноводных

Гастрюляция у земноводных имеет много общего с гастрюляцией ланцетника, но так как в яйцеклетках у них желтка намного больше и расположен он преимущественно на вегетативном полюсе, крупные бластомеры амфибластулы не способны впячиваться внутрь. **Инвагинация** проходит несколько иначе. На границе между анимальным и вегетативным полюсами в области серого серпа клетки сначала сильно вытягиваются внутрь, принимая вид «колбовидных» (рис. 7.6, а), а затем тянут за собой клетки поверхностного слоя бластулы. Возникают серповидная бороздка и спинная (дорзальная) губа бластопора (рис. 7.6, б).

Одновременно более мелкие клетки анимального полюса, делящиеся быстрее, начинают перемещаться в сторону вегетативного полюса. В области спинной губы они подворачиваются и впячиваются, а с боков и со стороны, противоположной серповидной бороздке, образуют более крупные клетки. Затем процесс **эпиволии** приводит к тому, что образуются боковые (латеральные) и брюшная (вентральная) губы бластопора. Бластопор смыкается в кольцо, внутри которого некоторое время видны крупные светлые клетки вегетативного полюса в виде так называемой **желточной пробки**. Позднее они полностью погружаются внутрь, а бластопор сужается.

С помощью метода маркировки прижизненными (витальными) красителями у земноводных детально изучены перемещения клеток бластулы во время гастрюляции. Установлено, что конкретные области бластодермы, называемые **презумптивными** (от лат. *praesumptio* - предположение), при нормальном развитии оказываются сначала в составе определенных зачатков органов, а затем в составе самих органов (рис. 7.7). Известно, что у бесхвостых амфибий материал презумптивной хорды и мезодермы на стадии бластулы лежит не на ее поверхности, а во внутренних слоях стенки амфибластулы, однако примерно на тех уровнях, как это показано на рисунке.

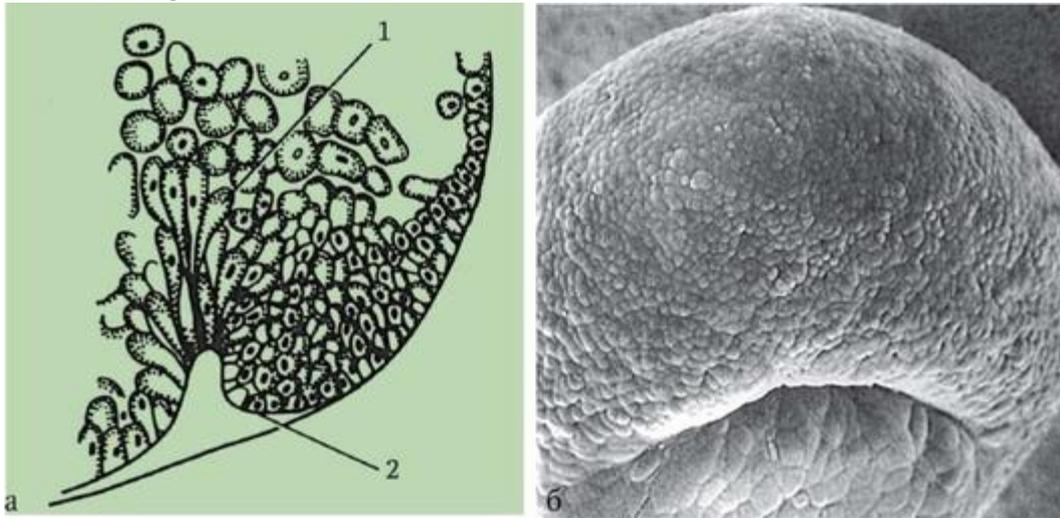


Рис. 7.6. Образование blastopora ранней гастролы амфибий: а - колбовидные клетки в области спинной губы blastopora; б - общий вид серповидной бороздки и спинной губы; 1 - колбовидные клетки; 2 - спинная губа blastopora

Определенное сходство процессов гастрюляции и областей презумптивных органов у земноводных и ланцетника, т.е. гомология основных органов, таких, как нервная трубка, хорда, вторичная кишка, указывает на их филогенетическое родство.

7.4.2.2-в. Гастрюляция у птиц

Гастрюляция у зародышей с меробластическим типом дробления и развития имеет свои особенности. У **птиц** она начинается вслед за дроблением и образованием бластулы во время прохождения зародыша по яйцеводу. К моменту откладки яйца зародыш уже состоит из нескольких слоев: верхний слой называют **эпибластом**, нижний - **первичным гипобластом** (см. рис. 7.4, в). Между ними находится узкая щель - **бластоцель**. Затем образуется **вторичный гипобласт**, способ образования которого не вполне ясен. Имеются данные о том, что в первичном ги-

побласте птиц берут начало первичные половые клетки, а вторичный образует внезародышевую энтодерму. Образование первичного и вторичного гипобласта рассматривают как явление, предшествующее гастрюляции.

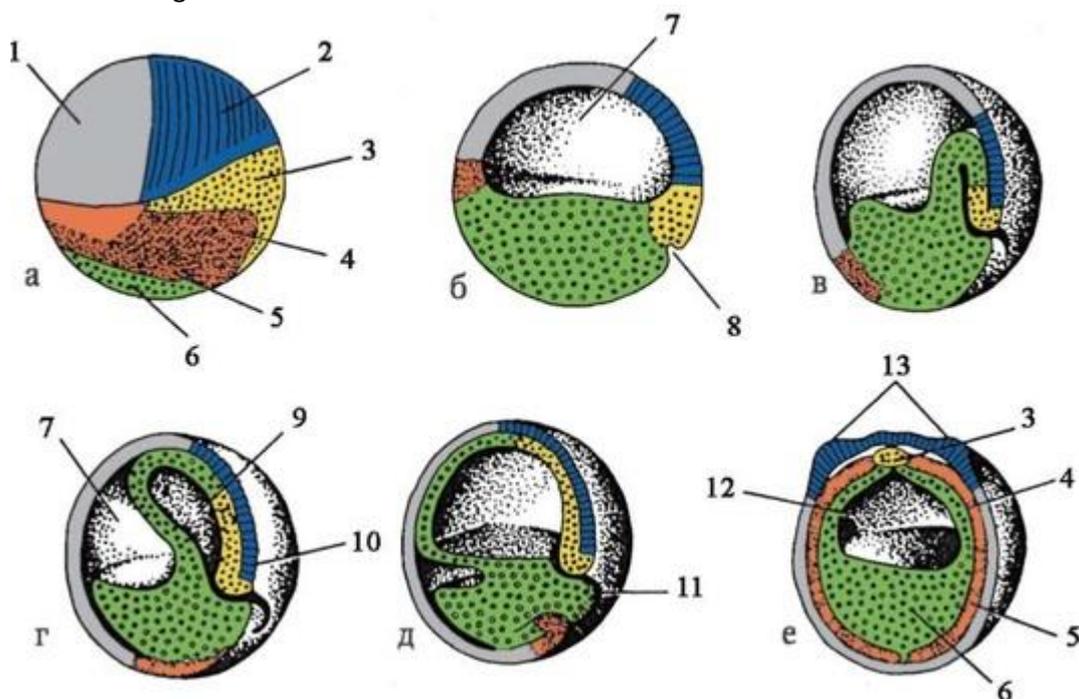


Рис. 7.7. Карта областей презумптивных зачатков органов на ранних стадиях эмбрионального развития амфибий: а - стадия бластулы (вид слева); б-д - последовательные этапы гаструляции (сагиттальные срезы); е - начало нейруляции (поперечный срез); 1 - кожная эктодерма; 2 - нервная трубка; 3 - хорда; 4 - мезодерма сомитов; 5 - мезодерма спланхнотомов; 6 - энтодерма; 7 - бластоцель; 8 - серповидная бороздка; 9 - гастроцель; 10 - спинная губа бластопора; 11 - желточная пробка; 12 - полость вторичной кишки; 13 - нервные валики

Основные события гаструляции и окончательное образование трех зародышевых листков начинаются после откладки яиц с началом инкубации. Возникает скопление клеток в задней части эпибласта как результат неравномерного по скорости деления клеток и перемещения их с боковых участков эпибласта к центру, навстречу друг другу. Образуется так называемая **первичная полоска**, которая вытягивается в направлении головного конца. В центре первичной полоски образуется **первичная бороздка**, а по краям - **первичные валики**. На головном конце первичной полоски возникает утолщение - **гензеновский узелок**, а в нем - **первичная ямка** (рис. 7.8).

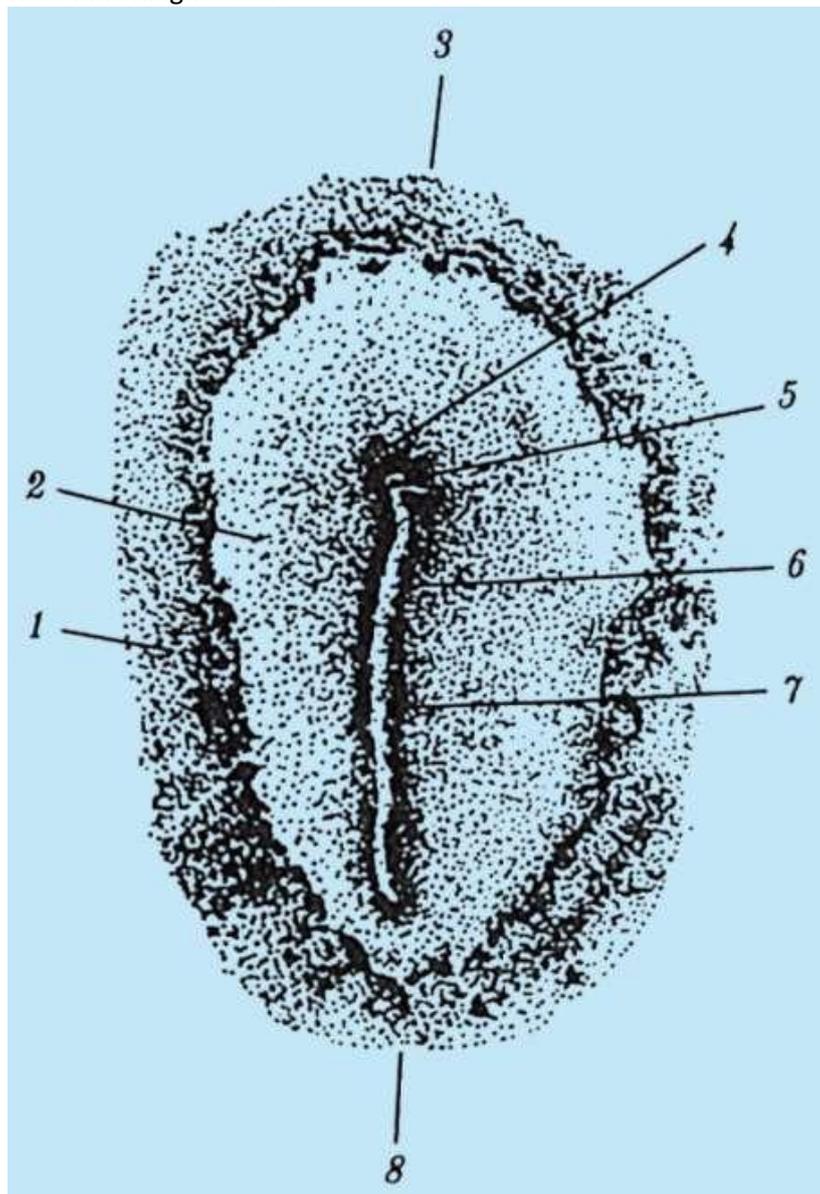


Рис. 7.8. Куриный зародыш на стадии первичной полоски (вид со спинной стороны): 1 - темная область; 2 - просвечивающая область зародышевого диска; 3 - головной конец; 4 - гензеновский узелок; 5 - первичная ямка; 6 - первичная бороздка; 7 - первичный валик; 8 - хвостовой конец

Когда клетки эпибласта входят в первичную бороздку, их форма изменяется. Они напоминают по форме «колбовидные» клетки гастролы земноводных. Затем эти клетки приобретают звездчатую форму и погружаются под эпибласт, образуя мезодерму. Часть мигрирующих клеток, встраиваясь в гипобласт, дает в дальнейшем начало зародышевой энтодерме (рис. 7.9). Таким образом, энтодерма образуется на основе первичного и вторичного гипобласта с добавлением нового поколения энтодермальных клеток, мигрирующих из верхних слоев бластодермы. Наличие нескольких генераций энтодермальных клеток указывает на растянутость периода гастрюляции во времени.

Часть клеток, мигрирующая из эпибласта через гензеновский узелок, образует будущую хорду. Одновременно с закладкой и удлинением хорды гензеновский узелок и первичная полоска постепенно смещаются в направлении от головного к хвостовому концу и исчезают. Это соответствует сужению и закрытию бластопора. По мере сокращения первичная полоска оставляет за собой сформированные участки осевых органов зародыша в направлении от

Источник KingMed.info

головных к хвостовым отделам. Представляется обоснованным рассматривать перемещения клеток в курином зародыше как гомологичные таковым у земноводных, а первичную полосу и ген-зеновский узелок - как гомологичные бластопору и спинной (дорсальной) губе гастролы этих животных.

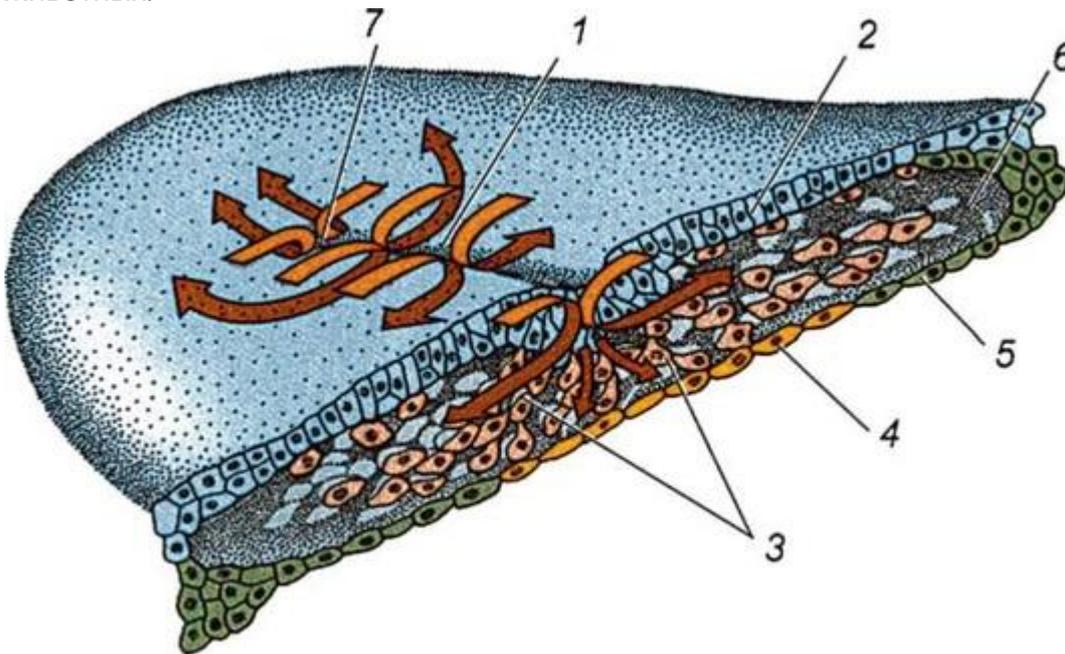


Рис. 7.9. Куриный зародыш на стадии первичной полосы (поперечный срез): 1 - первичная бороздка; 2 - эпибласт (эктодерма); 3 - мигрирующие клетки (мезодерма); 4 - зародышевая энтодерма; 5 - гипобласт (энтодерма); 6 - бластоцель; 7 - гензеновский узелок

7.4.2.2-г. Гастрюляция у млекопитающих

Интересно отметить, что клетки зародышей млекопитающих (см. п. 7.5.1), несмотря на то, что у этих животных яйцеклетки имеют малое количество желтка, а дробление полное, в фазе гастрюляции сохраняют перемещения, свойственные зародышам пресмыкающихся и птиц. Это подтверждает представление о происхождении млекопитающих от предковой группы, у которой яйца были богаты желтком.

7.4.2.3. Особенности стадии гастрюляции

Гастрюляция характеризуется разнообразными клеточными процессами. Продолжается митотическое **размножение клеток**, причем оно имеет разную интенсивность в разных частях зародыша. Интерфазы митотических циклов включают все периоды (G_1 , S , G_2), поэтому начиная со стадии гастрюляции наблюдается рост развивающегося организма. Вместе с тем наиболее характерная черта гастрюляции состоит в **перемещении клеточных масс**. Это приводит к изменению строения зародыша и превращению его из бластулы в гастролу.

Происходит **сортировка** клеток по их принадлежности к разным зародышевым листкам, внутри которых они «узнают» друг друга.

На фазу гастрюляции приходится начало **дифференцировки** клеток, что означает переход к активному использованию биологической информации собственного генома. Одним из регуляторов генетической активности является различный химический состав цитоплазмы клеток зародыша, установившийся вследствие ово(оо)плазматической сегрегации. Так, эктодермальные клетки земноводных имеют темный цвет из-за пигмента, попавшего в них из анимального

Источник KingMed.info

полюса яйцеклетки, а клетки энтодермы - светлый, так как происходят из вегетативного полюса яйца.

Во время гастрюляции очень велика роль **эмбриональной индукции** - взаимодействия между клеточными комплексами (частями) развивающегося зародыша. Показано, что появление первичной полосы у птиц - результат индукционного взаимодействия между гипобластом и эпибластом. Гипобласту присуща полярность. Изменение положения гипобласта по отношению к эпибласту вызывает изменение ориентации первичной полосы. Подробно обо всех перечисленных процессах рассказано в главе 8.

7.4.3. ОБРАЗОВАНИЕ ОРГАНОВ И ТКАНЕЙ 7.4.3.1. Сущность стадии органогенеза

Органогенезы, заключающиеся в образовании отдельных органов, составляют основное содержание эмбрионального периода. Они продолжаются в личиночном и завершаются в ювенильном периоде. Органогенезы отличаются наиболее сложными и разнообразными морфогенетическими (формообразующими) преобразованиями. Необходимая предпосылка перехода к органогенезам - достижение зародышем стадии гастрюлы, а именно формирование зародышевых листков. Занимая определенное положение по отношению друг к другу, зародышевые листки, контактируя и взаимодействуя, обеспечивают такие взаимоотношения между различными клеточными группами, которые стимулируют их развитие в определенном направлении. Это так называемая **эмбриональная индукция** - важнейшее следствие взаимодействия между зародышевыми листками.

В ходе органогенезов изменяются форма, структура и химический состав клеток, обособляются клеточные группы, представляющие собой зачатки будущих органов. Постепенно развивается определенная форма органов, устанавливаются пространственные и функциональные связи между ними. Процессы морфогенеза сопровождаются дифференцировкой клеток и образованием тканей, дифференциацией тканей и структур, а также их избирательным и неравномерным ростом. Обязательным условием органогенезов наряду с размножением, миграцией и сортировкой клеток является их избирательная гибель (см. гл. 8).

7.4.3.2. Нейруляция

Самое начало органогенеза называют нейруляцией. **Нейруляция** охватывает процессы от появления первых признаков формирования нервной пластинки до замыкания ее в нервную трубку (рис. 7.10). Параллельно формируются **хорда** и **вторичная кишка**, а лежащая по бокам от хорды мезодерма расщепляется в краниокаудальном направлении на сегментированные парные структуры - **сомиты** (формируется комплекс осевых органов - первичный органогенез).

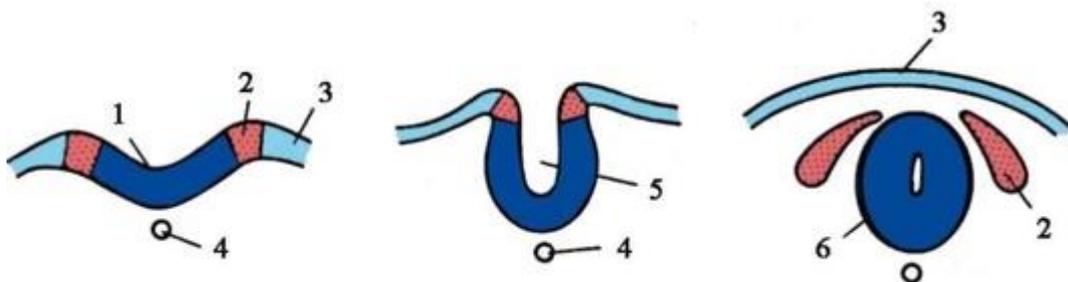


Рис. 7.10. Последовательные стадии формирования нервной трубки и нервного гребня (поперечный срез зародыша): 1 - нервная пластинка; 2 - нервный гребень; 3 - эктодерма; 4 - хорда; 5 - нервная бороздка; 6 - невроцель; 7 - нервные валики

Источник KingMed.info

Нервная система позвоночных, включая человека, отличается устойчивостью основного плана строения на протяжении всей эволюционной истории подтипа. В формировании нервной трубки у всех хордовых много общего. Вначале неспециализированная **спинная эктодерма**, отвечая на индукционное воздействие со стороны хордомезодермы, превращается в **нервную пластинку**, представленную **нейроэпителиальными** клетками цилиндрической формы.

Нервная пластинка недолго остается уплощенной. Вскоре ее боковые края приподнимаются, образуя **нервные валики**, которые лежат по обе стороны неглубокой продольной **нервной бороздки**. Края нервных валиков далее смыкаются, образуя замкнутую нервную трубку с каналом внутри - **невроцелем**. Раньше всего смыкание нервных валиков происходит на уровне начала (граница между спинным и головным мозгом) спинного мозга, а затем распространяется в головном и хвостовом направлениях. Показано, что в морфогенезе нервной трубки большую роль играют микротрубочки и микрофиламенты нейроэпителиальных клеток. Разрушение этих клеточных структур колхицином и цитоста-лазином *B* приводит к тому, что нервная пластинка остается открытой. Несмыкание нервных валиков ведет к врожденным порокам развития нервной трубки.

После смыкания нервных валиков клетки, первоначально располагавшиеся между нервной пластинкой и будущей кожной эктодермой, образуют **нервный гребень**. Клетки нервного гребня отличаются способностью к обширным, но строго регулируемым миграциям по всему телу (см. п. 8.2.2, рис. 8.9) и образуют два главных потока. Клетки одного из них - **поверхностного** - включаются в эпидермис или дерму кожи, где дифференцируются в пигментные клетки. **Другой поток мигрирует в брюшном направлении** и образует чувствительные спинномозговые ганглии, симпатические нервные узлы, мозговое вещество надпочечников, парасимпатические ганглии. Клетки из черепного отдела нервного гребня дают начало как нервным клеткам, так и ряду других структур, таких, как жаберные хрящи, некоторые покровные кости черепа.

Энтодерма у всех зародышей в конечном счете образует эпителий вторичной кишки и многие ее производные. Сама вторичная кишка всегда располагается под хордой.

Таким образом, в процессе нейруляции возникает комплекс **осевых органов**: нервная трубка, хорда, кишка, представляющих собой характернейшую черту организации тела всех хордовых. Одинаковое происхождение, развитие и взаимное расположение осевых органов выявляют их полную гомологию и эволюционную преемственность.

При углубленном рассмотрении и сравнении процессов нейруляции у конкретных представителей типа хордовых выявляются некоторые различия, которые связаны в основном с особенностями, зависящими от строения яйцеклеток, способа дробления и гастрюляции (рис. 7.11). Обращают внимание отличающаяся форма зародышей и смещение времени закладки осевых органов друг относительно друга, т.е. описанная выше гетерохрония.

7.4.3.3. Дифференцировка мезодермы

Мезодерма, занимающая место по бокам от хорды и распространяющаяся далее между кожной эктодермой и энтодермой вторичной кишки, подразделяется на дорсальную и вентральную области. Дорсальная часть сегментирована и представлена парными **сомитами**. Закладка сомитов идет от головного к хвостовому концу. Вентральная несегментированная часть мезодермы, имеющая вид тонкого слоя клеток, называется **боковой пластинкой**. Сомиты соединены с боковой пластинкой промежуточной мезодермой в виде сегментированных **ножек сомитов**.

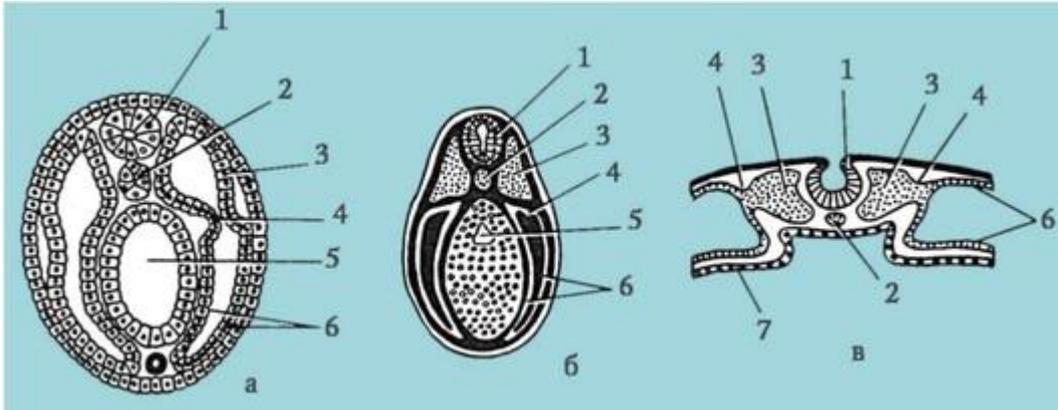


Рис. 7.11. Нейрулы различных хордовых животных: а - ланцетник; б - лягушка; в - цыпленок; 1 - нервная трубка; 2 - хорда; 3 - сомит; 4 - ножка сомита; 5 - вторичная кишка; 6 - боковая пластинка; 7 - энтодерма

Все области мезодермы постепенно дифференцируются. В начале формирования сомиты имеют конфигурацию, характерную для эпителия с полостью внутри. Под индукционным воздействием, исходящим от хорды и нервной трубки, вентромедиальные части сомитов - **скле-ротомы** - превращаются во вторичную мезенхиму, выселяются из сомита и окружают хорду и вентральную часть нервной трубки. В конце концов из них образуются позвонки, ребра и лопатки.

Дорсолатеральная часть сомитов дифференцируется по двум направлениям. Области сомитов, обращенные к покровной эктодерме, образуют **дерматомы**, которые дают начало внутреннему слою кожи - дерме. Клетки, находящиеся с внутренней стороны дорсолатеральной части сомитов, формируют **миотомы**, из которых разовьются поперечнополосатые скелетные мышцы тела и конечностей. Из области ножек сомитов с зачатками **нефротом** и **гонотом** образуются органы выделения и половые железы.

Несегментированные боковые пластинки расщепляются на два листка, ограничивающих вторичную полость тела - **целом**. **Внутренний листок**, прилежащий к энтодерме, называют висцеральным. Он окружает кишку со всех сторон и образует брыжейку, покрывает легочную паренхиму и мышцу сердца. **Наружный листок** боковой пластинки прилежит к эктодерме и называется **париетальным**. В дальнейшем он образует наружные листки брюшины, плевры и перикарда.

7.4.3.4. Производные зародышевых листков

Эктодерма, мезодерма и энтодерма в ходе дальнейшего развития, взаимодействуя друг с другом, участвуют в формировании конкретных органов (частные или локальные органогенезы). Возникновение зачатка органа связано с местными изменениями определенного участка соответствующего зародышевого листка. Так, **из эктодермы** развиваются эпидермис кожи и его производные (перо, волосы, ногти, кожные и молочные железы), компоненты органов зрения, слуха, обоняния, эпителий ротовой полости, эмаль зубов. Важнейшие эктодермальные производные - нервная трубка, нервный гребень и образующиеся из них все нервные структуры.

Производными энтодермы являются эпителий желудка и кишки, клетки печени, секретирующие клетки поджелудочной, кишечных и желудочных желез. Энтодерма переднего отдела эмбриональной кишки образует эпителий легких и воздухоносных путей, а также секретирующие клетки передней и средней долей гипофиза, щитовидной и пара-щитовидной желез.

Мезодерма, помимо уже описанных выше скелетных структур, скелетной мускулатуры, дермы кожи, органов выделительной и половой систем, образует сердечно-сосудистую систему, лимфатическую систему, плевру, брюшину и перикард. Из **мезенхимы**, имеющей смешанное происхождение за счет клеток трех зародышевых листков, развиваются все виды соединительной ткани, гладкая мускулатура, кровь и лимфа (подробнее в п. 8.2.5).

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

7.4.4. ПРОВИЗОРНЫЕ ОРГАНЫ ЗАРОДЫШЕЙ ПОЗВОНОЧНЫХ

Провизорные, или **временные**, органы образуются в эмбриогенезе ряда представителей позвоночных для обеспечения жизненно важных функций зародыша, таких, как дыхание, питание, выделение, движение и другие. Недоразвитые органы самого формирующегося животного еще не способны функционировать по назначению, хотя обязательно играют какую-то роль в системе развивающегося целостного организма. Как только зародыш достигает необходимой степени зрелости, когда большинство органов способны выполнять жизненно важные функции, временные органы рассасываются или отбрасываются.

Время образования провизорных органов зависит от того, какие запасы питательных веществ были накоплены в яйцеклетке и в каких условиях среды происходит развитие зародыша. У бесхвостых земноводных, например, благодаря достаточному количеству желтка в яйцеклетке и тому, что развитие идет в воде, зародыш осуществляет газообмен и выделяет продукты диссимиляции непосредственно через оболочки яйца и достигает стадии головастика. На этой стадии образуются провизорные органы дыхания (жабры), пищеварения и движения, приспособленные к водному образу жизни. Перечисленные личиночные органы дают возможность головастику продолжить развитие. По достижении состояния морфофункциональной зрелости органов взрослого типа временные органы исчезают в процессе метаморфоза.

У пресмыкающихся и птиц запасов желтка в яйцеклетке больше, но развитие зародыша идет не в воде, а на суше. В связи с этим очень рано возникает потребность в обеспечении дыхания и выделения, а также и в защите от высыхания. У них уже в раннем эмбриогенезе, почти параллельно с нейруляцией, начинается формирование провизорных органов, таких, как **амнион**, **хорион** и **желточный мешок**. Чуть позднее формируется аллантоис. У плацентарных млекопитающих эти же провизорные органы образуются еще раньше, поскольку в яйцеклетке очень мало желтка. Развитие таких животных происходит внутриутробно, образование провизорных органов у них совпадает по времени с периодом гастрюляции.

Наличие или отсутствие амниона и других провизорных органов лежит в основе деления позвоночных на две группы: *Amniota* и *Anamnia* (см. табл. 7.1). Эволюционно более древние позвоночные, развивающиеся исключительно в водной среде и представленные такими классами, как Круглоротые, Рыбы и Земноводные, не нуждаются в дополнительных водных и других оболочках зародыша и составляют группу анамний. К группе амниот относят первичноназемных позвоночных, т.е. тех, у кого эмбриональное развитие протекает в наземных условиях. Это три класса: Пресмыкающиеся, Птицы и Млекопитающие. Они относятся к высшим позвоночным, так как имеют скоординированные и высокоэффективные системы органов, обеспечивающие им существование в наиболее сложных условиях, каковыми являются условия суши. Эти классы насчитывают большое количество видов, вторично перешедших в водную

Источник KingMed.info

среду. Таким образом, высшие позвоночные оказались в состоянии освоить все среды обитания. Подобное совершенство было бы невозможным в том числе без внутреннего оплодотворения и образования специальных провизорных эмбриональных органов, называемых также **зародышевыми оболочками**. К зародышевым оболочкам амниот относят амнион, хорион (серозу), желточный мешок и аллантоис.

В строении и функциях провизорных органов различных амниот много общего. Характеризуя в самом общем виде провизорные органы зародышей высших позвоночных, следует отметить, что все они развиваются из клеточного материала уже сформировавшихся зародышевых листков. Некоторые особенности имеются в развитии зародышевых оболочек плацентарных млекопитающих, о чем будет сказано ниже.

Амнион представляет собой мешок, заключающий зародыша и заполненный амниотической жидкостью. Амниотическая оболочка образована внезародышевыми эктодермой и соматоплеврой. Экто-дермальная ее часть специализирована для секреции и поглощения амниотической жидкости, омывающей зародыш. Амнион играет первостепенную роль в защите зародыша от высыхания и от механических повреждений, создавая для него наиболее благоприятную и естественную водную среду. Мезодермальная часть амниона дает начало гладким мышечным волокнам. Сокращения этих мышц вызывают пульсацию амниона, а медленные колебательные движения, сообщаемые при этом зародышу, по-видимому, способствуют тому, что его растущие части не мешают друг другу.

Хорион (сероза) - самая наружная зародышевая оболочка, прилежащая к скорлупе (сероза) или материнским тканям (хорион), возникающая, как и амнион, из эктодермы и соматоплевры. Эта оболочка служит для обмена между зародышем и окружающей средой. У яйцекладущих видов основная функция серозы - участие в дыхании (газообмене); у млекопитающих хорион выполняет гораздо более обширные функции, участвуя, помимо дыхания, в питании, выделении, фильтрации и синтезе веществ, например гормонов.

Желточный мешок образован из внезародышевых энтодермы и висцеральной мезодермы и непосредственно связан с кишечной трубкой зародыша. У зародышей с большим количеством желтка он принимает участие в питании. У птиц, например, в спланхноплевре желточного мешка развивается сосудистая сеть. Желток не проходит через желточный проток, соединяющий мешок с кишкой. Сначала он переводится в растворимую форму под действием пищеварительных ферментов, продуцируемых энтодермальными клетками стенки мешка. Затем попадает в сосуды и с кровью разносится по всему телу зародыша.

У млекопитающих нет запасов желтка, и сохранение желточного мешка может быть связано с важными вторичными функциями. Мезодерма желточного мешка продуцирует форменные элементы крови зародыша. Кроме того, желточный мешок млекопитающих заполнен жидкостью, отличающейся высокой концентрацией аминокислот и глюкозы, что указывает на возможность обмена белков в желточном мешке.

Судьба желточного мешка у разных животных несколько различна. У птиц к концу периода инкубации остатки желточного мешка уже находятся внутри зародыша, после чего он быстро исчезает и к концу 6 суток после вылупления птенца полностью рассасывается. У млекопитающих желточный мешок бывает развит по-разному. У хищников он сравнительно большой, с сильно развитой сетью сосудов, а у приматов быстро сморщивается и исчезает без остатка до родов.

Аллантоис развивается несколько позднее других провизорных органов. Он представляет собой мешковидный вырост вентральной стенки задней кишки. Следовательно, он образован энтодермой изнутри и спланхноплеврой снаружи. У рептилий и птиц аллантаис быстро дорастает до хориона и выполняет несколько функций. Прежде всего, этоместилище для мочевины и мочевой кислоты, которые представляют собой конечные продукты обмена азотсодержащих органических веществ. В аллантаисе хорошо развита сосудистая сеть, благодаря чему вместе с хорионом он участвует в газообмене. При вылуплении наружная часть аллантаиса отбрасывается, а внутренняя - сохраняется в виде мочевого пузыря.

У многих млекопитающих аллантаис тоже хорошо развит и вместе с хорионом образует хориоаллантаисную плаценту. Термин **плацента** означает тесное наложение или слияние зародышевых оболочек с тканями родительского организма. У приматов и некоторых других млекопитающих энтодермальная часть аллантаиса рудиментарна, а мезодермальные клетки образуют плотный тяж, протягивающийся от клоакального отдела к хориону. По мезодерме аллантаиса к хориону растут сосуды, посредством которых плацента выполняет выделительную, дыхательную и питательную функции.

Доступнее и проще изучить образование и строение зародышевых оболочек на примере зародыша курицы. На стадии нейрулы три зародышевых листка непосредственно переходят от зародыша к внезародышевой части, никак не отграничиваясь. По мере того как зародыш приобретает форму, вокруг него образуется несколько складок, которые как бы подсекают зародыш, отделяют его от желтка и устанавливают четкие границы между зародышем и внезародышевыми областями. Они называются **туловищными складками** (рис. 7.12).

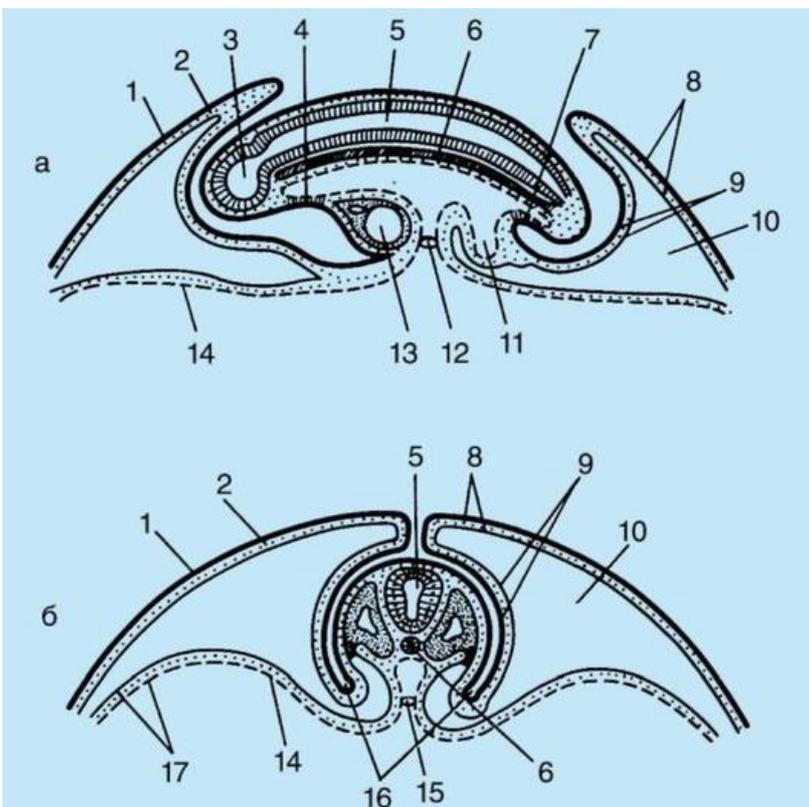


Рис. 7.12. Образование туловищных складок и зародышевых оболочек у зародыша цыпленка: а - продольный срез; б - поперечный срез; 1 - эктодерма; 2 - мезодерма; 3 - зачаток мозга; 4 - глоточная мембрана; 5 - нервная трубка; 6 - хорда; 7 - клоачная мембрана; 8 - хорион; 9 - амнион; 10 - экзоцелом; 11 - аллантаис; 12 - область пупка; 13 - зачаток сердца; 14 - энтодерма; 15 - закладка кишечника; 16 - туловищные складки; 17 - желточный мешок

Источник KingMed.info

Сначала образуется головная складка. Она пересекает снизу головную часть. Задние концы этой складки переходят в боковые туловищные складки, отграничивающие туловище зародыша с боков. Хвостовая складка отграничивает задний конец зародыша. Постепенно сужается ножка, соединяющая среднюю кишку и желточный мешок, образуются передний и задний отделы кишки. Одновременно из эктодермы и прилегающей к ней соматоплевры образуется сначала головная складка (рис. 7.13), которая, как капюшон, нарастает на зародыш сверху. Концы головной складки образуют по бокам **амниотические валики**. Они растут поверх зародыша навстречу друг другу и срастаются, образуя сразу стенки амниона, прилежащего к зародышу, и хориона, лежащего снаружи.

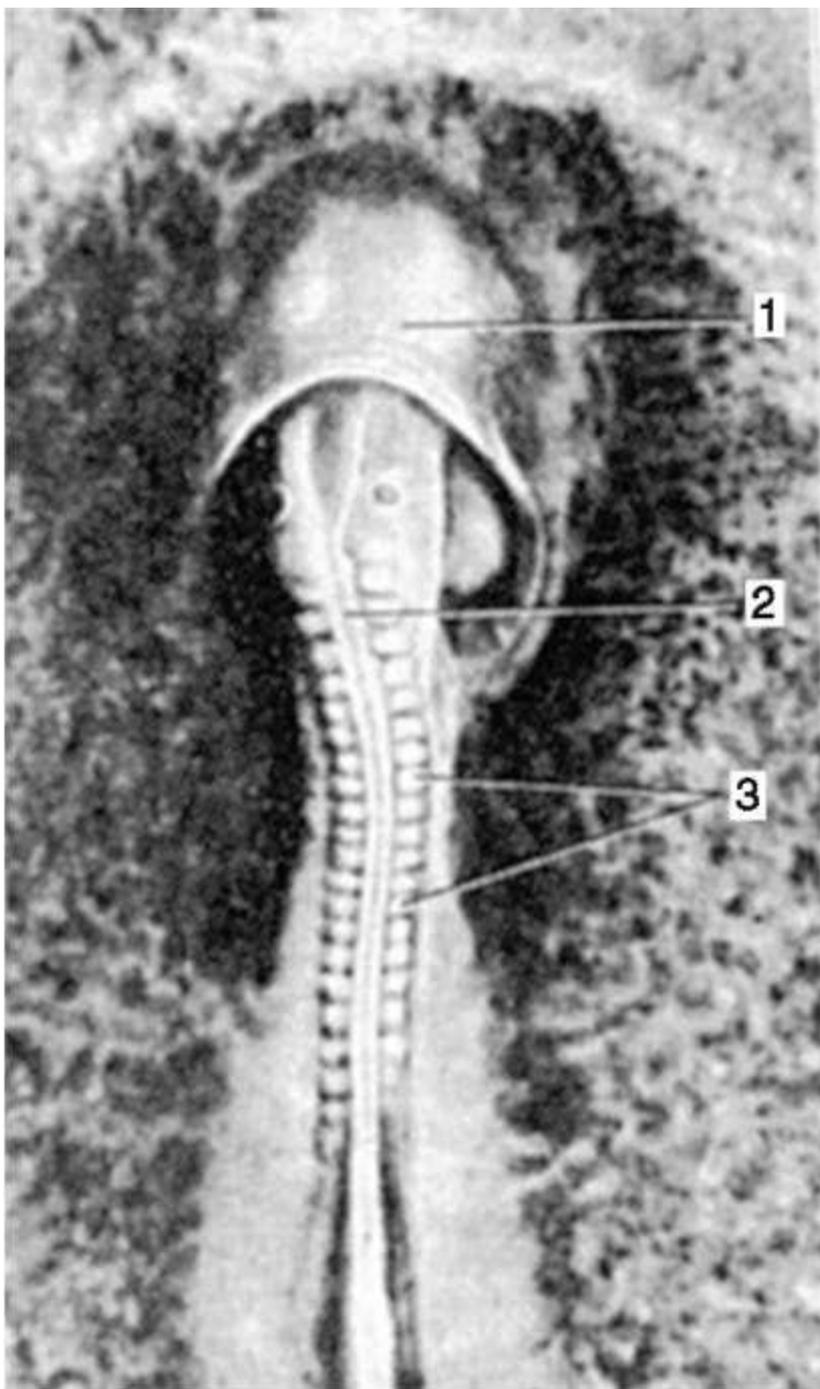


Рис. 7.13. Куриный зародыш около 40 ч инкубации: 1 - головная складка амниона; 2 - нервная трубка; 3 - сомиты

Позднее образуется аллантаис (рис. 7.14). Общий вид куриного зародыша на 6-е сут инкубации изображен на рис. 7.15. У различных млекопитающих процессы образования провизорных органов больше или меньше похожи на описанные выше у птиц. Особенности развития их у приматов, в том числе человека, показаны в следующей главе.

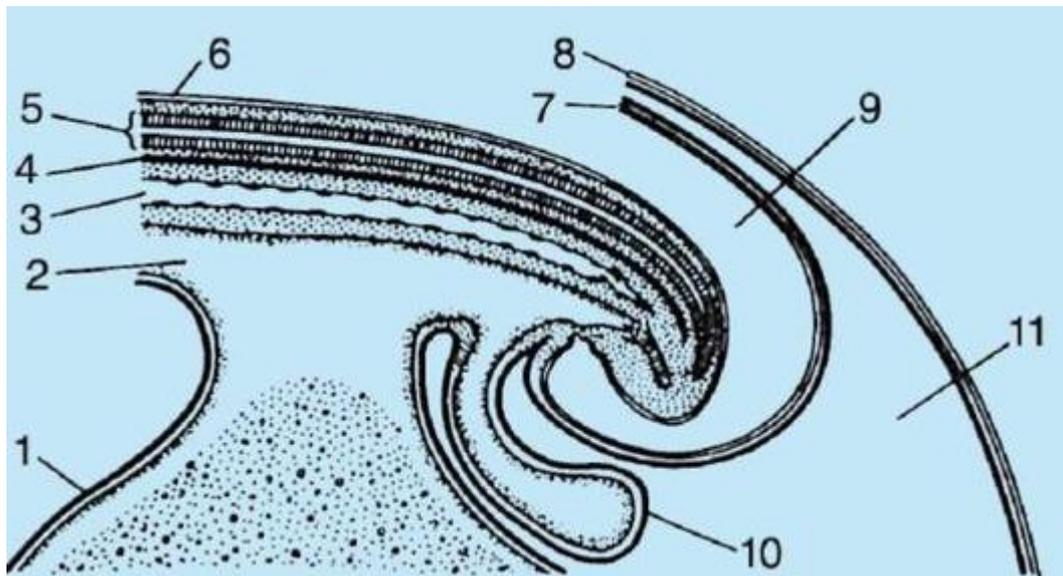


Рис. 7.14. Образование аллантаиса у зародыша цыпленка (продольный срез хвостовой части): 1 - желточный мешок; 2 - средняя кишка; 3 - аорта; 4 - хорда; 5 - нервная трубка; 6 - эктодерма; 7 - амнион; 8 - хорион; 9 - полость амниона; 10 - аллантаис; 11 - экзоцелом

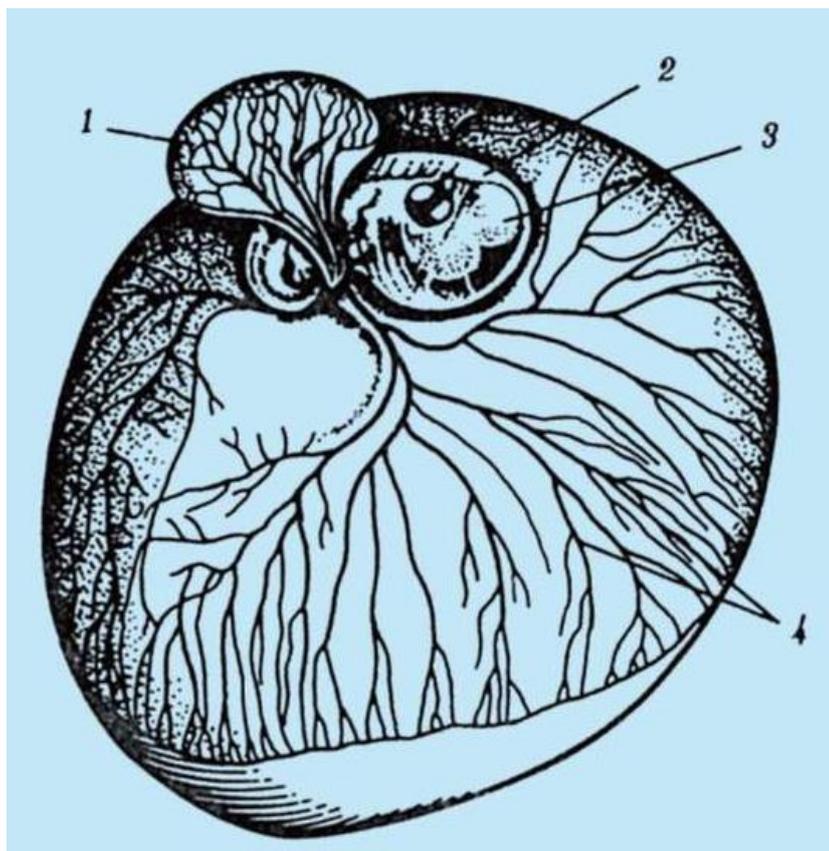


Рис. 7.15. Куриный зародыш на 6-е сут инкубации (белок и хорион удалены, аллантаис сдвинут вверх): 1 - аллантаис; 2 - амнион; 3 - зародыш; 4 - сосуды желточного мешка

7.5. эмбриональное развитие млекопитающих 7.5.1. ПЕРИОДИЗАЦИЯ И РАННЕЕ ЭМБРИОНАЛЬНОЕ РАЗВИТИЕ

Изучение пренатального и, в частности, эмбрионального (внутриутробного) развития человека очень важно, так как помогает лучше понять взаимосвязи между органами, а также механизмы возникновения врожденных пороков развития. В эмбриональном развитии разных видов млекопитающих есть общие черты, но существуют и различия. У всех плацентарных, например, процессы раннего эмбриогенеза существенно отличаются от таковых, ранее описанных у других позвоночных. Вместе с тем и среди плацентарных есть видовые особенности.

Дробление зиготы человека характеризуется следующими чертами. Плоскость первого деления проходит через полюса яйцеклетки, т.е., как и у других позвоночных, является меридианной. При этом один из образующихся бластомеров оказывается крупнее другого, что указывает на **неравномерность** дробления. Два первых бластомера вступают в следующее деление **асинхронно**. Борозда проходит по меридиану и перпендикулярно первой борозде. Таким образом, возникает стадия трех бластомеров. Во время деления меньшего бластомера происходит поворот пары образующихся более мелких бластомеров на 90° , так, что плоскость борозды деления оказывается перпендикулярной к первым двум бороздам. Аналогичное расположение бластомеров на 4-клеточной стадии описано у мыши, кролика, норки и обезьяны (рис. 7.16). Благодаря асинхронному дроблению могут быть стадии с нечетным числом бластомеров - 3, 5, 7, 9, которые, вследствие отсутствия стадии роста, отличаются своими размерами. Таким образом, дробление человека **полное асинхронное неравномерное**.

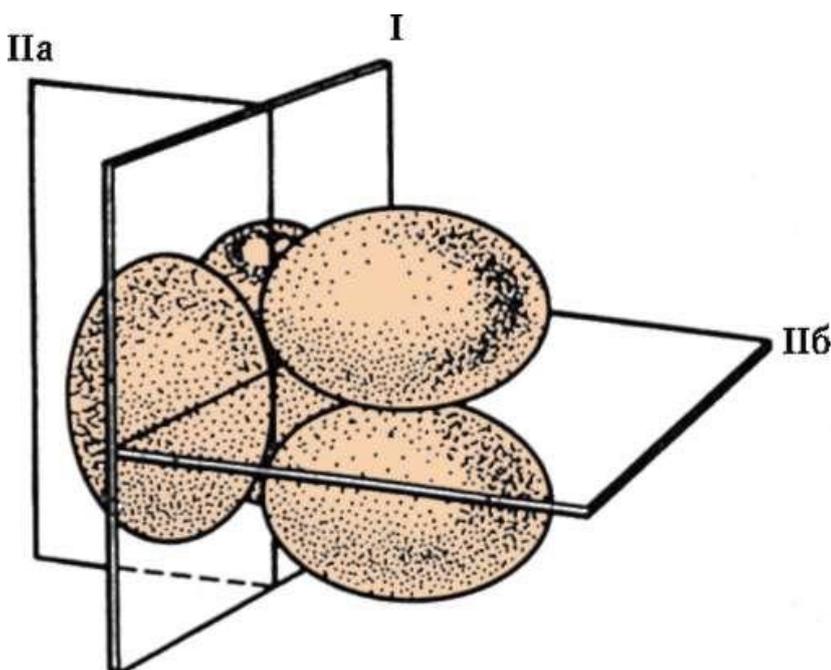


Рис. 7.16. Ранние стадии дробления зиготы кролика: I - плоскость первой борозды дробления; IIa - плоскость второй борозды дробления одного из первых двух бластомеров; IIб - плоскость второй борозды дробления второго из первых двух бластомеров

В результате дробления образуется скопление клеток - **морула**. Поверхностно расположенные бластомеры образуют клеточный слой, а бластомеры, лежащие внутри морулы, группируются в центральный клеточный узелок. Вскоре внутри морулы появляется жидкость, образуется полость (бластоцель), и зародыш превращается в **бластоцисту**. Формирование морулы происходит на стадии 16 бластомеров, а кавитация (образование полости) начиная со стадии 32 бластомеров.

В **бластоцисте** различают наружный слой клеток (**трофобласт**) и внутреннюю клеточную массу (зародышевый узелок, или **эмбрио-бласт**). Внутренняя клеточная масса оттеснена жидкостью к одному из полюсов бластоцисты. Позднее из **трофобласта** разовьется наружная зародышевая оболочка - хорион, а из **эмбриобласта** - сам зародыш и некоторые внезародышевые органы. Показано, что собственно зародыш развивается из очень небольшого числа клеток зародышевого узелка.

Стадия дробления протекает под блестящей оболочкой. На рисунке 7.17 изображены ранние стадии эмбриогенеза человека с указанием, где в материнском организме располагается зародыш. Дробление человеческой зиготы и возникновение бластоцисты схематично представлены на рис. 7.18 и 7.19.

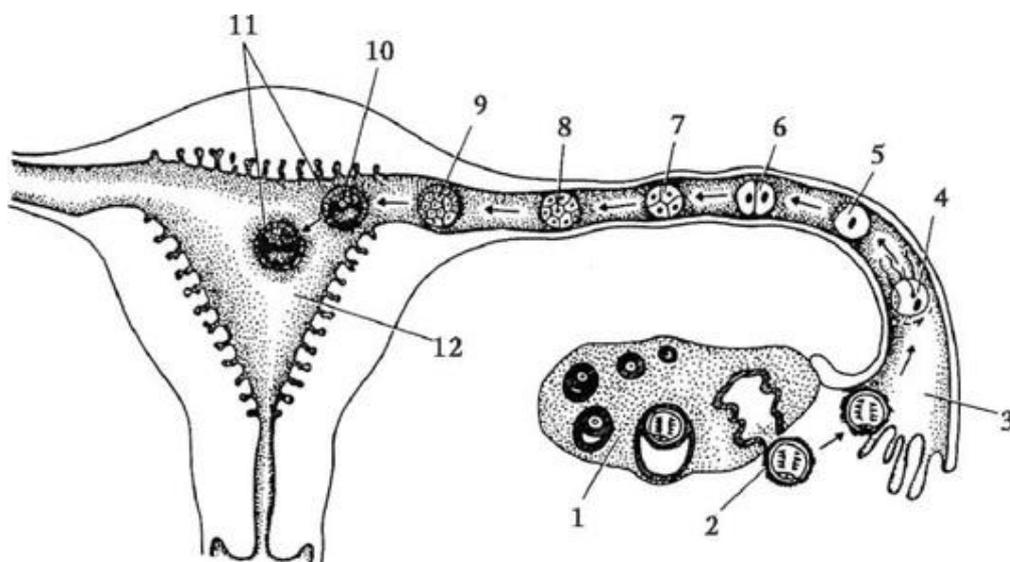


Рис. 7.17. Овуляция, оплодотворение и человеческий зародыш на 1-й неделе развития: 1 - яичник; 2 - овоцит II порядка (овуляция); 3 - яйцевод; 4 - оплодотворение; 5 - зигота; 6 - зародыш на стадии двух бластомеров; 7 - зародыш на стадии четырех бластомеров; 8 - зародыш на стадии восьми бластомеров; 9 - морула; 10, 11 - бластоциста; 12 - задняя стенка матки

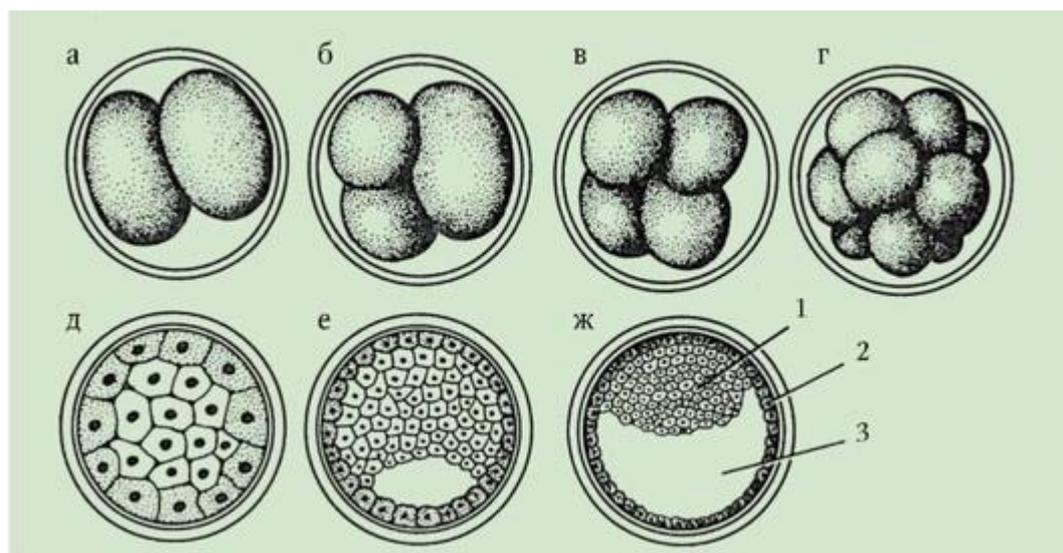


Рис. 7.18. Дробление зиготы человека: а - два бластомера; б - три бластомера; в - четыре бластомера; г - морула; д - разрез морулы; е, ж - разрез ранней и поздней бластоцисты: 1 - эмбриобласт; 2 - трофобласт; 3 - бластоцель

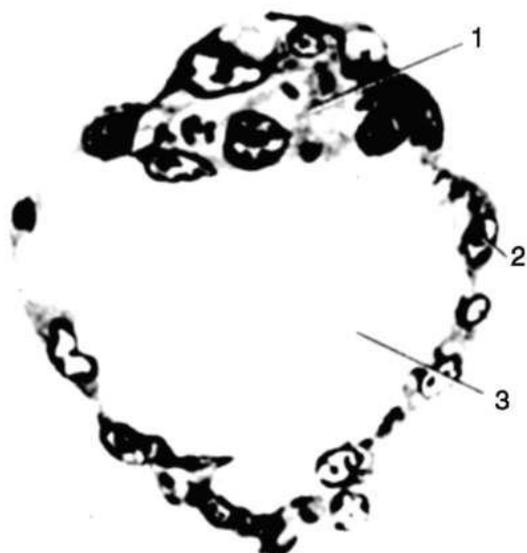


Рис. 7.19. Бластоциста зародыша человека (срез): 1 - эмбриобласт; 2 - трофобласт; 3 - бластоцель

Примерно на 6-7-е сутки после оплодотворения зародыш, который уже 2-3 сут свободно плавал в полости матки, готов к имплантации, т.е. к погружению в ее слизистую оболочку. Под действием ферментов, выделяемых трофобластом, блестящая оболочка частично разрушается и зародыш выходит из нее («вылупляется»). При участии белков-интегринов, синтезируемых и эпителием матки, и клетками трофобласта, бластула своим эмбриональным полюсом прикрепляется к стенке матки. Вступив в контакт с материнскими тканями, клетки трофобласта быстро размножаются и, выделяя протеолитические ферменты, разрушают их (эти ткани). Это вызывает реакцию стенки матки, сопровождающуюся активным образованием сосудов в месте имплантации. Нарушение синтеза интегринов и необходимых для имплантации ферментов делает этот процесс невозможным, что, в свою очередь, ведет к гипоксии и гибели зародыша. В ходе имплантации трофобласт дифференцируется на два слоя: внутренний, называемый **цитотрофобластом**, поскольку он сохраняет клеточное строение, и наружный, называемый **синцитио-трофобластом**, поскольку он представляет собой синцитий. На рисунке 7.20 показан зародыш человека в процессе имплантации.

Гастрюляция у млекопитающих тесно связана с другими эмбриональными преобразованиями. Одновременно с разделением трофо-бласта на два слоя происходит уплощение зародышевого узелка, и он превращается в двухслойный зародышевый щиток. Нижний слой щитка - **гипобласт**, или первичная энтодерма, по мнению большинства авторов, образуется путем деламинации внутренней клеточной массы, примерно так, как это происходит в зародышевом диске птиц. Первич-

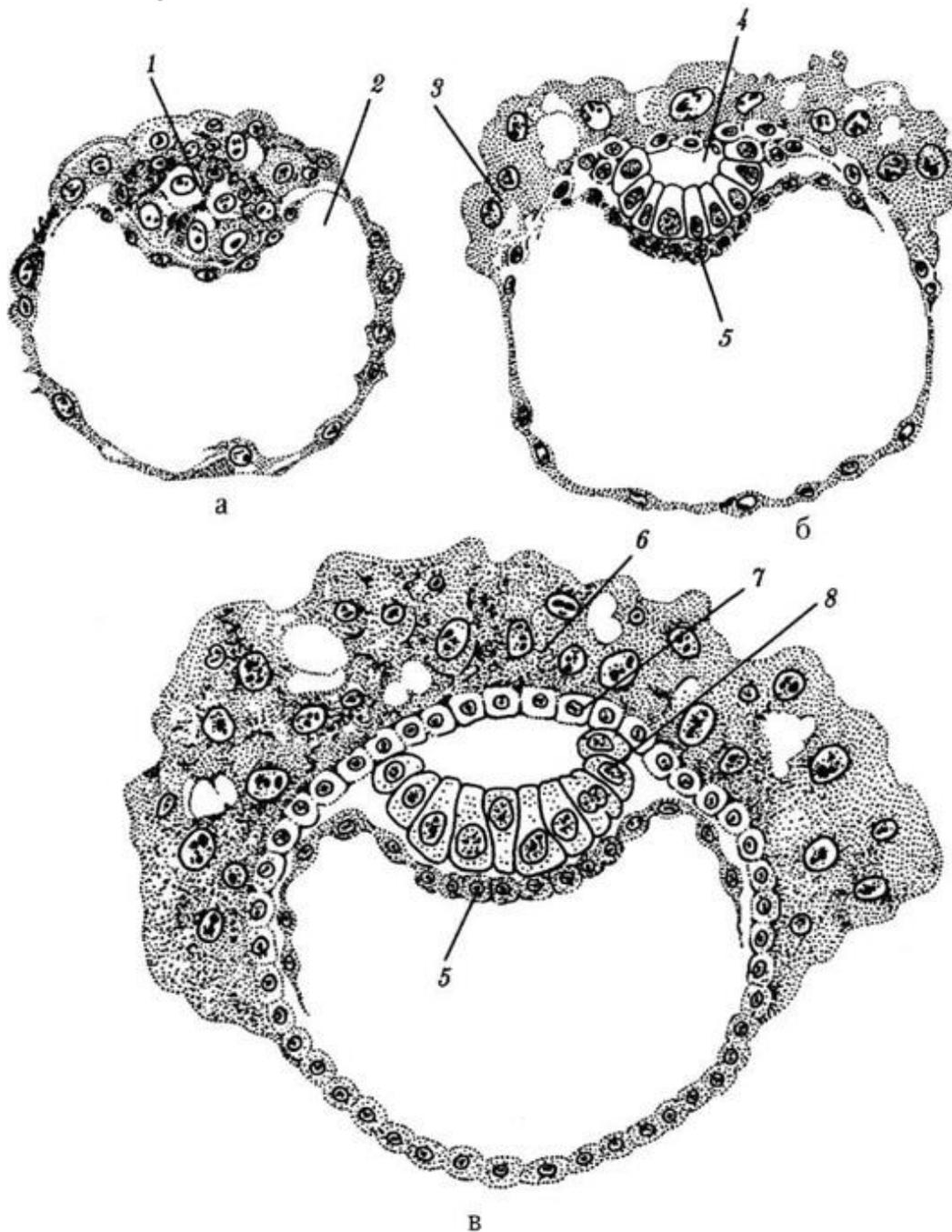


Рис. 7.20. Последовательные стадии имплантации и развития зародыша человека в конце 1-й и на 2-й неделе: а - бластоциста; б - бластоциста в самом начале имплантации (7-е сутки развития); в - частично имплантировавшаяся бластоциста (8-е сутки развития)

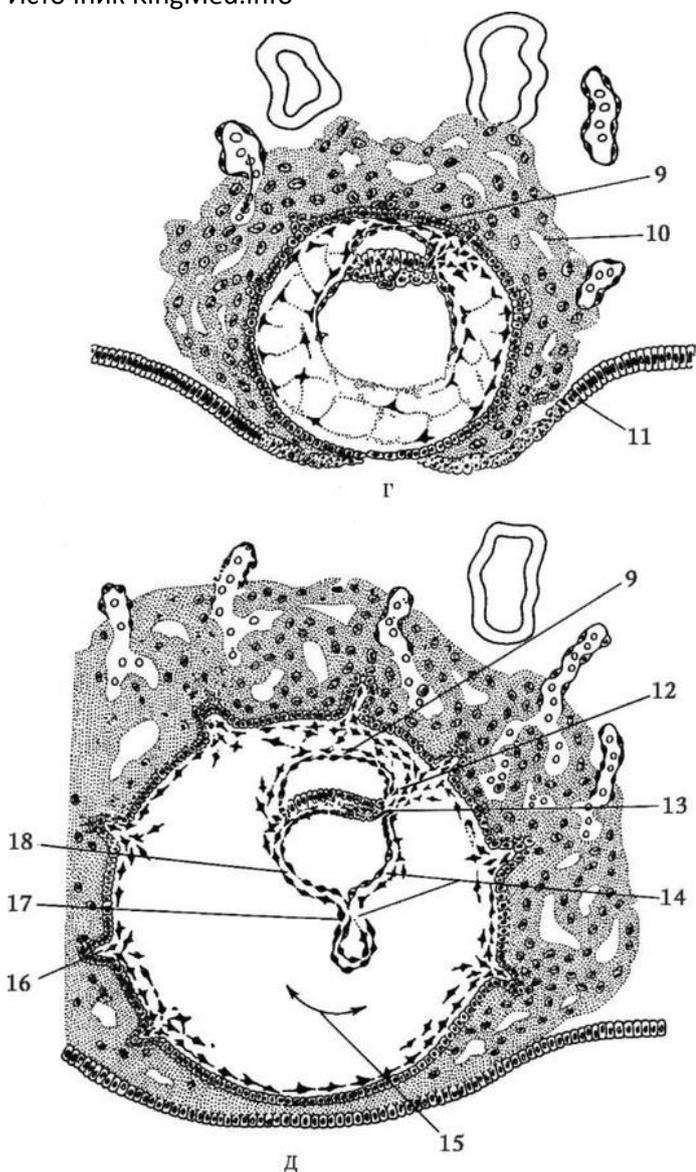


Рис. 7.20. Окончание: г - зародыш на 9-10-е сутки развития; д - зародыш на 13-е сутки развития: 1 - эмбриобласт, 2 - бластоцель, 3 - трофобласт, 4 - полость амниона, 5 - гипобласт, 6 - синцитиотрофобласт, 7 - цитотрофобласт, 8 - эпибласт, 9 - амнион, 10 - лакуна трофобласта, 11 - эпителий матки, 12 - ножка тела, 13 - почка аллантаоиса, 14 - желточный меток, 15 - внезародышевый целом, 16 - ворсинка хориона, 17 - первичный желточный мешок, 18 - вторичный желточный мешок

ная энтодерма полностью расходуется на образование внезародышевой энтодермы. Выстилая полость трофобласта, она образует первичный желточный мешок млекопитающих.

Верхний клеточный слой - **эпибласт** - источник будущей эктодермы, мезодермы и вторичной энтодермы. На 3-й неделе в эпибласте образуется **первичная полоска**, развитие которой сопровождается почти такими же перемещениями клеточных масс, как и при образовании первичной полоски птиц (рис. 7.21). В головном конце первичной полоски образуются **гензеновский узелок** и **первичная ямка**, гомологичные спинной губе бластопора других позвоночных. Клетки, которые перемещаются в области первичной ямки, направляются под эпибластом в сторону прехордальной пластинки.

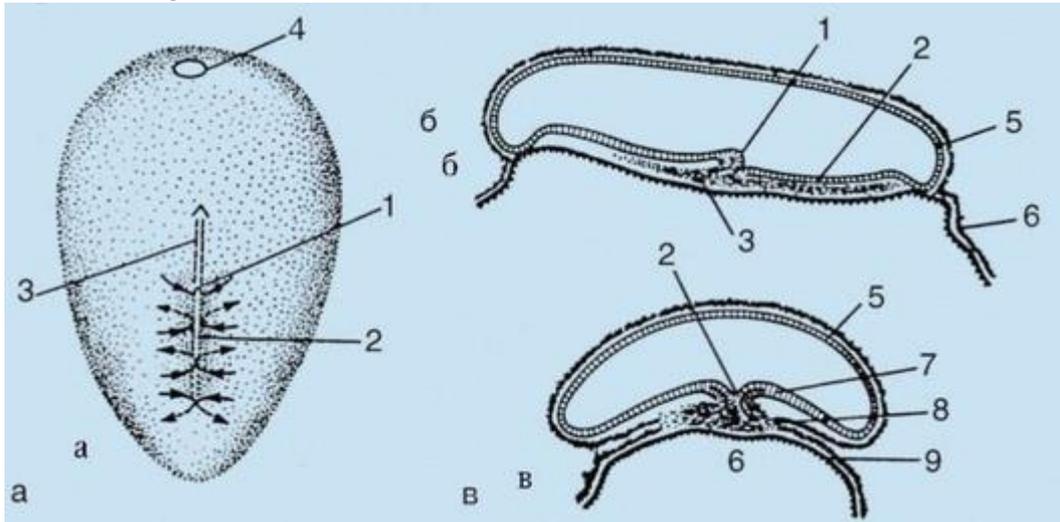


Рис. 7.21. Развитие зародыша человека на стадии первичной полоски (15-17-е сутки): а - вид на зародыш сверху (амнион снят); б - продольный срез; в - поперечный срез через первичную полоску: 1 - гензеновский узелок; 2 - первичная полоска; 3 - хорда; 4 - прехордальная пластинка; 5 - амнион; 6 - желточный мешок; 7 - эктодерма; 8 - мезодерма; 9 - энтодерма

Прехордальная пластинка находится на головном конце зародыша и обозначает место будущей ротоглоточной мембраны. Клетки, перемещающиеся по центральной оси, образуют зачаток хорды и мезодермы и составляют **хордомезодермальный отросток**. Гензеновский узелок постепенно смещается к хвостовому концу зародыша, первичная полоска укорачивается, а зачаток хорды удлиняется. По бокам от хордомезодермального отростка образуются мезодермальные пластинки, которые расширяются в обе стороны. На рисунке 7.22 представлена обобщающая схема некоторых процессов раннего эмбрионального развития.



Рис. 7.22. Дифференциация зародышевых листков млекопитающих

К концу 3-й недели в эктодерме зародыша над зачатком хорды образуется **нервная пластинка**. Она состоит из высоких цилиндрических клеток. В центре нервной пластинки образуется прогиб в виде **нервного желоба**, а по бокам его возвышаются **нервные валики**. Это начало нейруляции. В средней части зародыша происходит смыкание нервных валиков - образуется **нервная трубка**. Затем смыкание распространяется в головном и хвостовом направлениях. Нервная трубка и прилежащие к ней участки эктодермы, из которых в дальнейшем развивается **нервный гребень**, полностью погружаются и отделяются от эктодермы, срастающейся над ними (см. рис. 7.10). Полоска клеток, лежащая под нервной

трубкой, превращается в хорду. По бокам от хорды и нервной трубки в средней части зародыша появляются сегменты спинной мезодермы - сомиты. К концу 4-й недели они распространяются к головному и хвостовому концам, их число достигает примерно 40 пар.

К этому же времени относится начало формирования вторичной кишки, закладок сердца и сосудистой сети желточного мешка. На рисунке 7.23 видны соотношения размеров зародыша и внезародышевых органов на 21-е сутки развития. Более детально обособление тела зародыша от зародышевых оболочек и закладку органов можно видеть на рис. 7.24, где изображены не только общий вид зародыша, но и планы разрезов. Обращает внимание быстрое (за 7 сут 4-й недели) формирование зародыша в виде вытянутого в длину и изогнутого тела, приподнятого и отсеченного туловищными складками от желточного мешка. За это время закладываются все сомиты, четыре пары жаберных дуг, сердечная трубка, почки конечностей, средняя кишка, а также «карманы» передней и задней кишки.

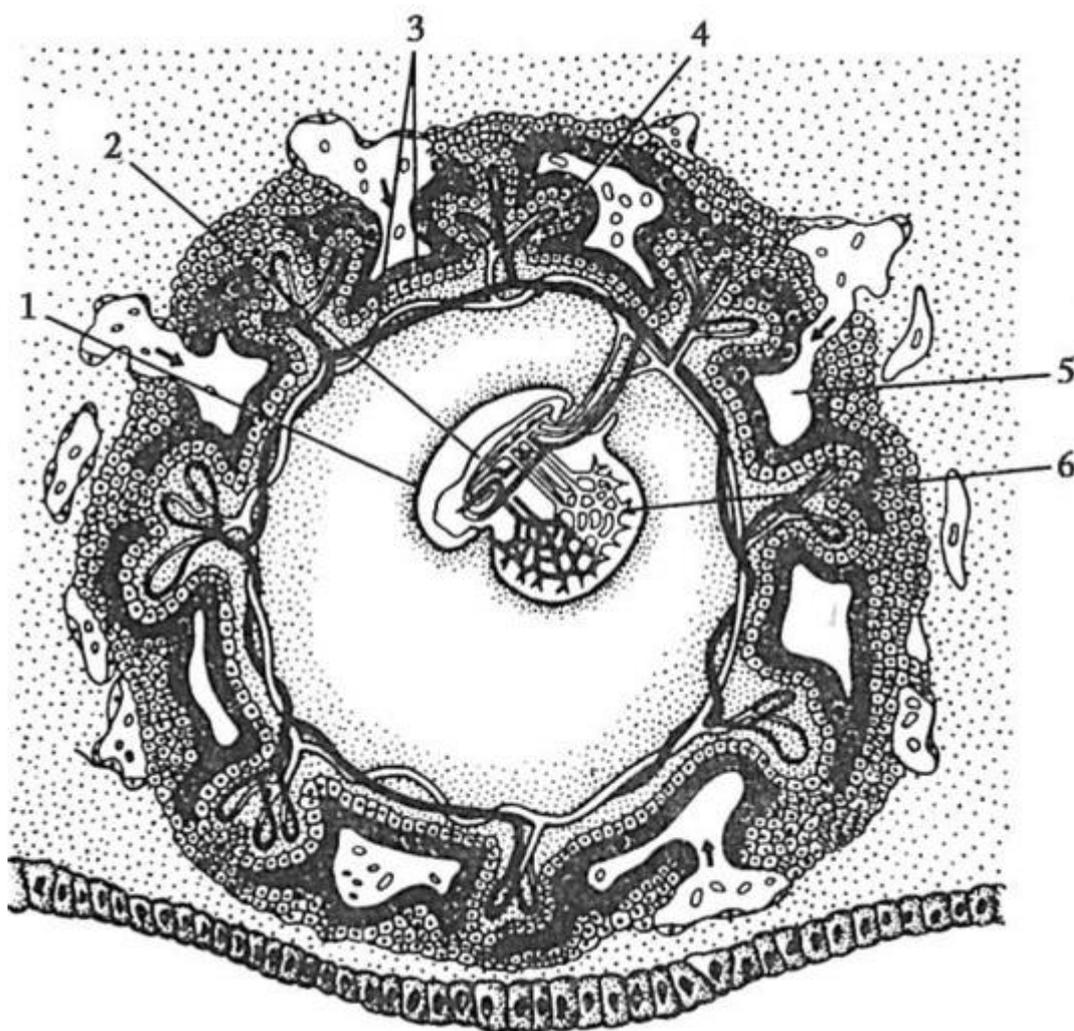


Рис. 7.23. Зародыш и внезародышевые органы человека на 21-е сутки развития: 1 - амнион; 2 - зародыш; 3 - хорион; 4 - третичная ворсина; 5 - материнская кровь; 6 - желточный мешок

В следующие четыре недели эмбрионального развития закладываются все основные органы. Нарушение процесса развития в этот период ведет к наиболее грубым и множественным врожденным порокам развития.

Как было отмечено выше, развитие внезародышевых провизорных органов у млекопитающих и человека имеет особенности. Эти органы образуются очень рано, одновременно с гастрюляцией, и несколько иначе, чем у других амниот. Начало развития хориона и амниона приходится на 7-8-

е сутки, т.е. совпадает с началом имплантации. **Хорион** возникает из трофобласта, который уже разделился на цитотрофобласт и синцитиотрофобласт. Последний под влиянием контакта со слизистой оболочкой матки разрастается и разрушает ее. К концу 2-й недели обра-

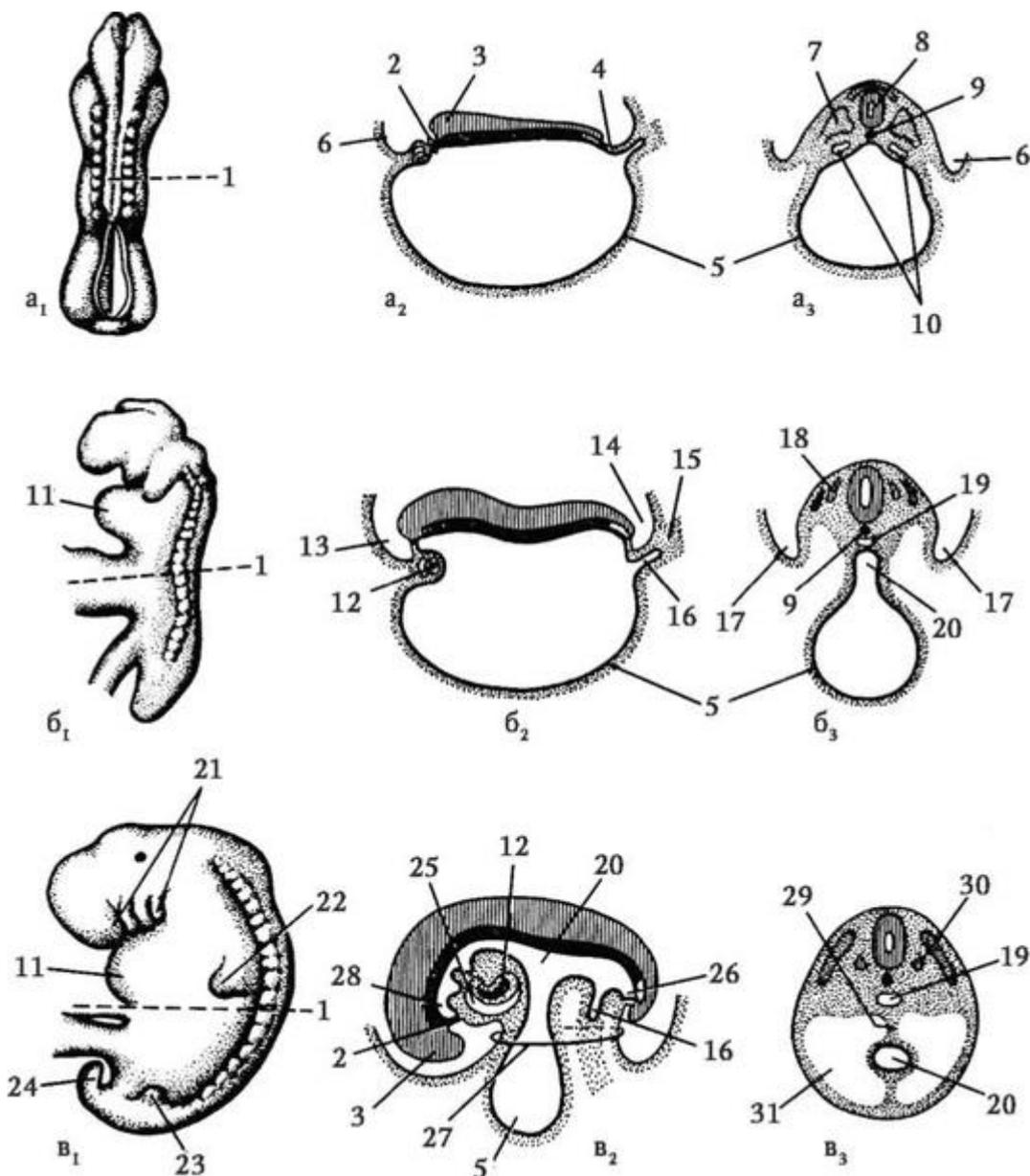


Рис. 7.24. Развитие зародыша человека на 4-й неделе: а₁б₁в₁ - общий вид; а₂б₂в₂ - продольный срез; а₃б₃в₃ - поперечный срез; а₁а₂а₃ - 22 сут; б₁б₂б₃ - 24 сут; в₁в₂в₃ - 28 сут: 1 - уровень поперечного среза; 2 - ротоглоточная мембрана; 3 - мозг; 4 - клоачная мембрана; 5 - желточный мешок; 6 - амнион; 7 - сомиты; 8 - нервная трубка; 9 - хорда; 10 - парные закладки брюшной аорты; 11 - сердечный выступ; 12 - сердце; 13 - головная туловищная складка; 14 - хвостовая туловищная складка; 15 - ножка тела; 16 - аллантоис; 17 - боковые туловищные складки; 18 - нервный гребень; 19 - спинная аорта; 20 - средняя кишка; 21 - жаберные дуги; 22 - почка передней конечности; 23 - почка задней конечности; 24 - хвост; 25 - перикард; 26 - карман задней кишки; 27 - пупочный канатик; 28 - карман передней кишки; 29 - спинная брыжейка; 30 - нервный узел заднего корешка; 31 - внутризародышевый целом
зуются первичные ворсинки хориона в виде скопления эпителиальных клеток цитотрофобласта. В начале 3-й недели в них врастает мезодермальна мезенхима и возникают вторичные ворсинки, а когда к концу 3-й недели внутри соединительнотканной сердцевины появляются

Источник KingMed.info

кровеносные сосуды, их называют третичными ворсинками. Область, где тесно прилежат ткани хориона и слизистая оболочка матки, называют **плацентой**.

У человека, как и у других приматов, сосуды материнской части плаценты утрачивают свою непрерывность и ворсинки хориона фактически омываются кровью и лимфой материнского организма. Такая плацента называется **гемохориальной**. По мере развития беременности ворсинки увеличиваются в размерах, разветвляются, но кровь плода с самого начала и до конца изолирована от материнской крови плацентарным барьером.

Плацентарный барьер состоит из трофобласта, соединительной ткани и эндотелия сосудов плода. Этот барьер проницаем для воды, электролитов, питательных веществ и продуктов диссимиляции, а также для антигенов эритроцитов плода и антител материнского организма, токсических веществ и гормонов. Клетками плаценты вырабатывается четыре гормона, в том числе хорионический гонадотропин, который обнаруживается в моче беременной женщины со 2-3-й недели беременности.

Амнион возникает путем расхождения клеток эпибласта внутренней клеточной массы. Амнион человека называют **шизамнионом** (см. рис. 7.20) в отличие от **плеврамниона** птиц и некоторых млекопитающих. Амниотическая полость некоторое время ограничена клетками эпибласта и частично участком трофобласта. Затем боковые стенки эпи-бласта образуют складки, направленные вверх, которые впоследствии срастаются. Полость оказывается полностью выстланной эпибластическими (эктодермальными) клетками. Снаружи амниотическую эктодерму окружают внезародышевые мезодермальные клетки. Амниотическая жидкость содержит разнообразные вещества, такие, как белки, углеводы, соли, микроэлементы, гормоны и др. Ее состав меняется в ходе развития, кроме того, она постоянно обновляется. В процессе развития зародыша она играет важную роль при формировании носовой и ротовой полостей, органов пищеварения и дыхания.

Желточный мешок появляется, когда от внутренней клеточной массы отделяется тонкий слой гипобласта и его внезародышевые энто-дермальные клетки, перемещаясь, выстилают изнутри поверхность трофобласта. Образовавшийся первичный желточный мешок на 12-13-е сутки спадается и преобразуется во вторичный желточный мешок, связанный с зародышем желточным протоком. Эктодермальные клетки покрываются снаружи внезародышевой мезодермой. На 3-й неделе развития в стенке желточного мешка начинают обнаруживаться первичные половые клетки, клетки крови и кровеносные сосуды. До 7-8-й недели развития этот желточный мешок является основным кроветворным органом зародыша.

Аллантоис возникает у зародыша человека, как и у других амниот, в виде кармана вентральной стенки задней кишки, но его энтодермальная полость остается рудиментарной структурой. Тем не менее в его стенках развивается обильная сеть сосудов, соединяющаяся с главными кровеносными сосудами зародыша. Мезодерма аллантаиса соединяется с мезодермой хориона, отдавая в него кровеносные сосуды, которые примерно до второго месяца эмбриогенеза обеспечивают питание развивающегося зародыша. Таким образом происходит васкуляризация хориоаллантаисной плаценты.

Некоторые этапы и сроки развития органов у зародышей человека представлены в табл. 7.4.

Таблица 7.4. Основные периоды и события в раннем онтогенезе человека

Период	Время от начала развития		Длина зародыша, мм	Преобразование в зародыше	Связь с организмом матери
	нед	сут			

Источник KingMed.info

Герминальный (собственно зародышевый)	1	1		Оплодотворение	В яйцевом	
		2		Деление зиготы		
		3		Морула		
		4		Ранняя бластоциста		
		5				
		6		Поздняя бластоциста		В полости матки начало имплантации
		7				
Эмбриональный	2-6	8		Двухслойный зародышевый диск и появление амниона		
		9		Начальный желточный мешок		
		10-12		Внезародышевая мезодерма и целом		

Продолжение табл. 7.4

		13-15		Вторичный желточный мешок, первичная полоска	
		16-17	1,5	Трехслойный зародыш хордальный отросток, мезодерма	
		18-19		Нервная пластинка, нервные валики, хорда, целом	
		20-21		Нервный желобок, сомиты, срастание сердечных трубок	
		22-23		Сокращения сердца, смыкание нервных валиков	
		24-25		Две-три пары жаберных дуг, ушная ямка	
		26-27	3	4 пары жаберных дуг, почки конечностей	
		28-32	4-6	Глазные бокалы, ямки хрусталика, носовые ямки	
		33-36	8	Пластинки кистей, ротовая и носовая полости соединены	
		37-40	10	Пластинки стоп, верхняя губа сформирована, развивается нёбо	
		41-43	13-16	Лучи пальцев	
Эмбрио- фетальный	7-8	44-47	17	Лучи стоп, наружные половые органы по индифферентному типу	Гладкий хорион
		48-51	18	Конечности удлинены, пальцы разделены, анальная и мочеполовая мембраны исчезают	
		52-53		Половые органы дифференцируются	

Окончание табл. 7.4

		54-56	30	Имеются все основные наружные и внутренние органы	
Фетальный		9-40			
• ранний	9-28	57		Лицо имеет вид человеческого	
		64-66		Наружные половые органы сформированы не до конца	
		68		Признаки пола четко различимы	
• поздний	29-40			Рост и дифференциация всех органов	
Интранатальный				Роды	
Неонатальный	1-7	8-28			Нет
• ранний					
• поздний					

7.5.2. ПРИМЕРЫ ОРГАНОГЕНЕЗОВ ЧЕЛОВЕКА, ОТРАЖАЮЩИХ ЭВОЛЮЦИЮ ВИДА

В этом разделе не ставится цель описать развитие всех органов человека. Будут рассмотрены лишь некоторые морфогенетические процессы, иллюстрирующие следующие общебиологические моменты:

- значение межклеточных, тканевых и межорганных взаимодействий в морфогенезе;
- отражение в морфогенезе человека эволюционно более древних черт организации позвоночных;
- особенности органогенезов, позволяющие оценить стадию и механизмы нарушений развития при тех или иных врожденных пороках.

Сегментарное строение **позвочника** отражает его происхождение из сомитов зародыша. Кроме того, формирование позвонков тесно связано с хордой и спинным мозгом. Тела позвонков образуются из мигрирующих по направлению к хорде и окружающих ее скоплений мезенхимных клеток, которые происходят из склеротомов. В образовании тел позвонков участвуют мезенхимные клетки двух лежащих рядом пар сомитов, в связи с чем тела позвонков находятся не на уровне сомитов, а между ними. В то же время мышцы, развивающиеся из миотомов сомитов, как бы перекидываются через межпозвоночные сочленения и обеспечивают движение позвонков.

Дужки позвонков образуются из скопления мезенхимных склеротомных клеток, распространяющихся в спинном (дорсальном) направлении, а поперечные отростки и ребра образуются из скоплений склеротомных клеток, мигрирующих вбок. Спинной мозг и спинномозговые ганглии на соответствующих этапах внутриутробного развития участвуют в морфогенезе спинных дужек позвонков. Так, если удалить спинномозговые ганглии, то хрящ спинных дужек формируется, но имеет вид несегментированного стержня (рис. 7.25).

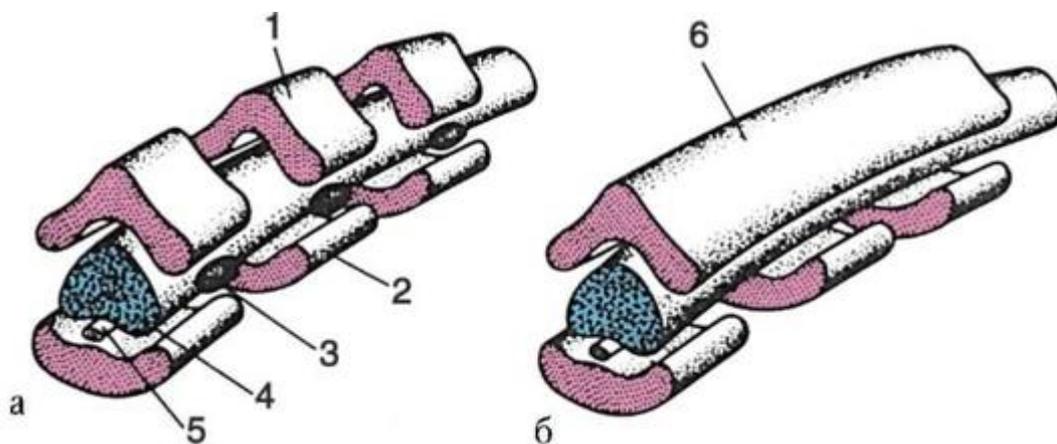


Рис. 7.25. Развитие спинных дужек позвонков у куриного зародыша: а - нормальное развитие; б - после удаления спинномозговых ганглиев: 1 - спинная дужка; 2 - тело позвонка; 3 - спинномозговой узел; 4 - спинной мозг; 5 - хорда; 6 - несегментированные спинные дужки позвонков

Постепенно изменяется гистологическое строение позвонков. На протяжении 4-5-й недель образуются мезенхимные позвонки, на 6-й неделе появляются очаги хондрогенеза, а затем на 8-й неделе начинается окостенение, продолжающееся почти до 25 лет. Участки хорды, расположенные внутри тел позвонков, постепенно исчезают. Внутри межпозвоночных дисков хорда сохраняется в виде слизеподобной структуры, известной под названием *nucleus pulposus*.

Источник KingMed.info

Формирование **среднего уха** связано с онтогенетическими преобразованиями первой и второй **висцеральных (жаберных) дуг**. На рисунке 7.26 схематично показаны области головы и шеи на 4-й и 24-й (конец первого-второй триместр периода внутриутробного развития) неделях развития человека. На 4-й неделе у эмбриона в головной и шейной областях справа и слева закладываются висцеральные (жаберные) дуги. Изнутри со стороны глотки между ними образуются **глочные карманы** (рис. 7.27). Это выпячивания (или впячивания) энтодермы, растущие вбок. Снаружи, соответственно глоточным выростам, впячиваются внутрь эктодермальные **жаберные карманы**.

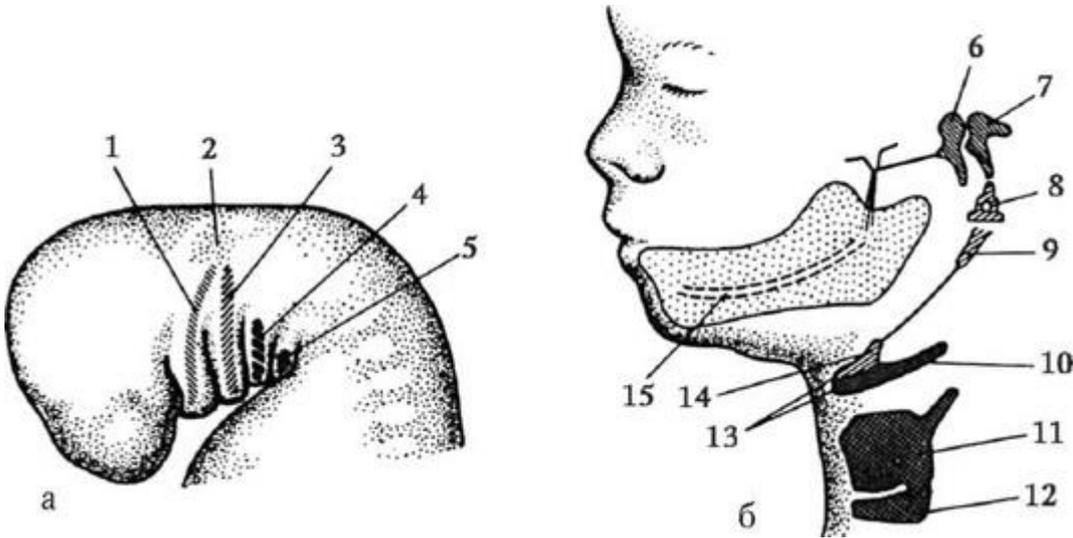


Рис. 7.26. Голова и шея зародыша человека, вид сбоку: а - на 4-й неделе; б - на 24-й неделе: 1 - первая дуга; 2 - местоположение развивающегося внутреннего уха; 3 - вторая дуга; 4 - третья дуга; 5 - четвертая дуга; 6 - молоточек; 7 - наковальня; 8 - стремечко; 9 - шиловидный отросток; 10 - большой рог подъязычной кости; 11 - щитовидный хрящ; 12 - перстневидный хрящ; 13 - тело подъязычной кости; 14 - малый рог; 15 - нижняя челюсть; закладки висцеральных дуг (а) и развивающиеся из них органы (б) обозначены одинаковой штриховкой

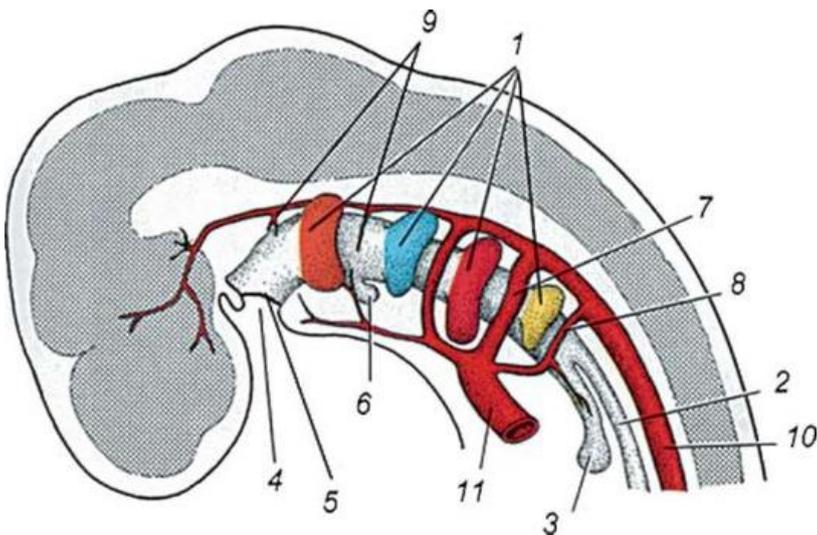


Рис. 7.27. Жаберная область 5-недельного зародыша человека (покровная эктодерма и мезенхима удалены). 1 - глоточные карманы; 2 - пищевод; 3 - трахея и легочная почка; 4 - стомодеум; 5 - стомодеальная (ротовая) пластинка; 6 - зачаток щитовидной железы; 7 - 4-я аортальная дуга; 8 - 6-я аортальная дуга; 9 - редуцирующиеся 1-я и 2-я аортальные дуги; 10 - спинная нисходящая аорта; 11 - брюшная восходящая аорта (артериальный мешок)

Энтодерма и эктодерма первого глоточного и жаберного карманов приходят в контакт на 4-й неделе развития (рис. 7.28, а). Контакт продолжается недолго, слепой конец глоточного кармана отходит от поверхности и окружается мезенхимой (рис. 7.28, б). Из дистальной части глоточного кармана начинает развиваться полость среднего уха (барабанная полость), а из проксимальной части образуется слуховая (евстахиева) труба. Из мезенхимы в дальнейшем дифференцируются закладки слуховых косточек, служащих для проведения звука (рис. 7.28, в). Молоточек и наковальня происходят из клеточного материала первой висцеральной дуги, стремечко - из клеточного материала дорсальной части второй висцеральной дуги. Мышцы и нервы, связанные со звукопроводящим косточковым аппаратом косточками среднего уха, формируются из клеточного материала области первой и второй висцеральных дуг.

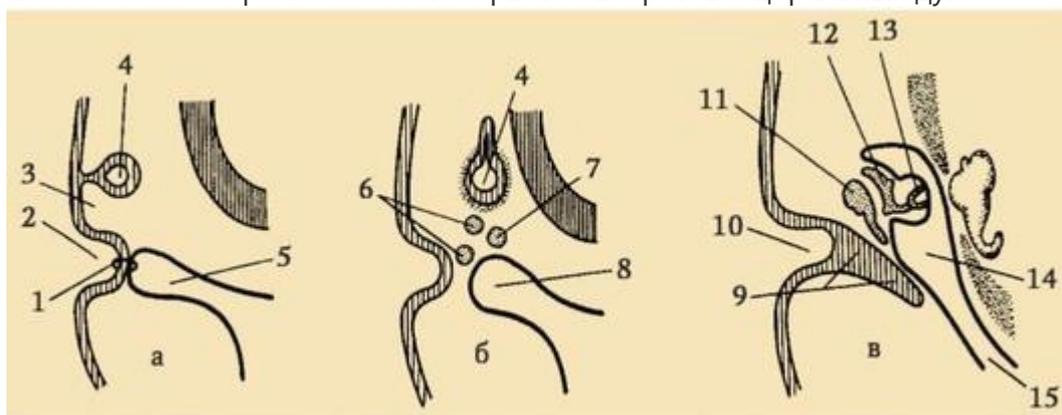


Рис. 7.28. Развитие среднего уха, фронтальный разрез: а - на 4-й неделе; б - на 5-й неделе; в - более поздние стадии; 1 - первая жаберная пластинка; 2 - первый жаберный карман; 3 - первая висцеральная (жаберная) дуга; 4 - слуховой пузырек; 5 - первый глоточный карман; 6 - производные первой висцеральной дуги; 7 - производное второй висцеральной дуги; 8 - трубобарабанная полость; 9 - пробка наружного слухового прохода. 10 - первичный наружный слуховой проход; 11 - молоточек; 12 - наковальня; 13 - стремечко; 14 - барабанная полость; 15 - слуховая (евстахиева) труба

В конце внутриутробной жизни и в течение нескольких месяцев после рождения эмбриональная соединительная ткань, находящаяся в барабанной полости, рассасывается. Только после этого слуховые косточки приобретают подвижность, и колебания барабанной перепонки могут свободно передаваться на мембрану овального окна внутреннего уха.

В формировании структур **лицевой области** и **ротовой полости** принимают участие клетки экто- и мезодермы. Большая часть структур лицевой области развивается из масс мезенхимных клеток экто-дермального происхождения, мигрирующих из нервного гребня (4-й зародышевый листок). Из этой мезенхимы развиваются соединительная, хрящевая и костная ткани и ткань пульпы зубов. Поперечнополосатая мускулатура мышц лица и глотки формируется из мезенхимы мезодермального происхождения. Здесь важно понять, как шел процесс «расширения и смены функций» в антропогенезе.

Ротовая полость образована эктодермальным впячиванием **стомо-деумом**, примыкающим к слепо заканчивающейся передней кишке. Их разделяет тонкая **стомодеальная пластинка**, состоящая из экто-дермального (со стороны стомодеума) и энтодермального (со стороны кишки) листков (см. рис. 7-26). Эта пластинка прорывается в конце 4-й недели развития, и ротовая полость соединяется с первоначально слепо замкнутой кишечной трубкой. Околоушные слюнные железы развиваются из эктодермы стомодеума, а подъязычные и подчелюстные слюнные железы - из энтодермы вентральной части глотки.

У 5-недельного зародыша ротовое отверстие ограничено следующими структурами (рис. 7.29, а): по средней линии выше ротовой полости находится округлая нависающая область - **лобный (фронтальный) выступ**; по бокам от него располагаются подковообразные возвышения, окружающие обонятельные ямки. Средние отростки этих возвышений называются **медиальными носовыми**, а боковые – **латеральными носовыми отростками**. Из верхних боковых углов ротовой полости по направлению к средней линии растут **верхнечелюстные отростки**.

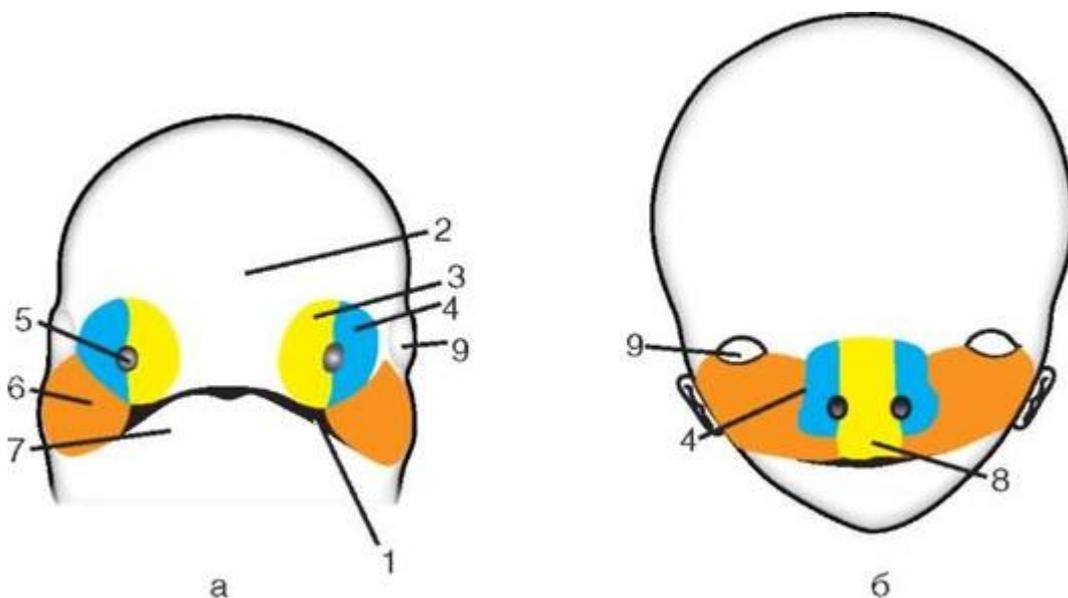


Рис. 7.29. Последовательные этапы формирования лица (вид спереди): а - на 5-й неделе; б - на 10-й неделе. 1 - стомодеум; 2 - лобный (фронтальный) выступ; 3 - медиальный носовой отросток; 4 - латеральный носовой отросток; 5 - обонятельная ямка; 6 - верхнечелюстной отросток; 7 - закладка нижнечелюстной дуги; 8 - филтрум; 9 - глаз

Ограничивающая ротовую полость снизу **нижняя челюсть** формируется из **парных закладок нижнечелюстной дуги**. Вначале они появляются с каждой стороны от средней линии, затем увеличиваются навстречу друг другу и срастаются.

В течение 6-й недели происходит быстрое развитие **верхней челюсти**. Верхнечелюстные отростки растут по направлению к средней линии. Одновременно с этим носовые отростки увеличиваются, оттесняя вверх расположенную между ними нижнюю часть лобного выступа. Особенно интенсивно растут медиальные носовые отростки, которые смещаются по направлению к средней линии и сливаются друг с другом, а затем срастаются с верхнечелюстными отростками, образуя тем самым на 10-й неделе развития полную верхнечелюстную дугу. Кожная эктодерма над слившимися медиальными отростками формирует **филтрум** - продольный желобок над верхней губой под носом (рис. 7.29, б). К концу второго месяца развития, когда образуется верхняя челюсть, начинает развиваться **твердое нёбо**. В его формировании, так же как и в образовании верхней челюстной дуги, участвуют **средние носовые и верхнечелюстные отростки** (рис. 7.30, а). Из срединной области верхней челюсти, возникшей в результате срастания средних носовых отростков, формируется небольшая треугольной формы часть - **первичное нёбо**. Основная часть - **вторичное нёбо** - развивается из **латеральных нёбных выростов (отростков)**, которые появляются на верхней челюсти (рис. 7.30, б). Сначала они направлены вниз, а затем края нёбных отростков поднимаются вверх и к средней линии. Они контактируют и сливаются с образованием шва нёба. Сформировавшаяся основная часть нёба разделяет наиболее верхнюю

Источник KingMed.info

часть исходной стомодеальной полости. Вторичное нёбо сростается с первичным, и к их краниальной поверхности прирастает носовая перегородка (рис. 7.30, в). Таким образом, одновременно с отделением носовой полости от ротовой происходит ее разделение на правую и левую половины.

В начальный период своего формирования (на 5-й неделе эмбриогенеза) **язык** представляет собой мешок, образованный слизистой оболочкой, заполняющийся растущей мышечной массой. Считают, что слизистая оболочка языка возникает из **эктодермы стомодеума**, а мышцы происходят из **затылочных миотомов**.

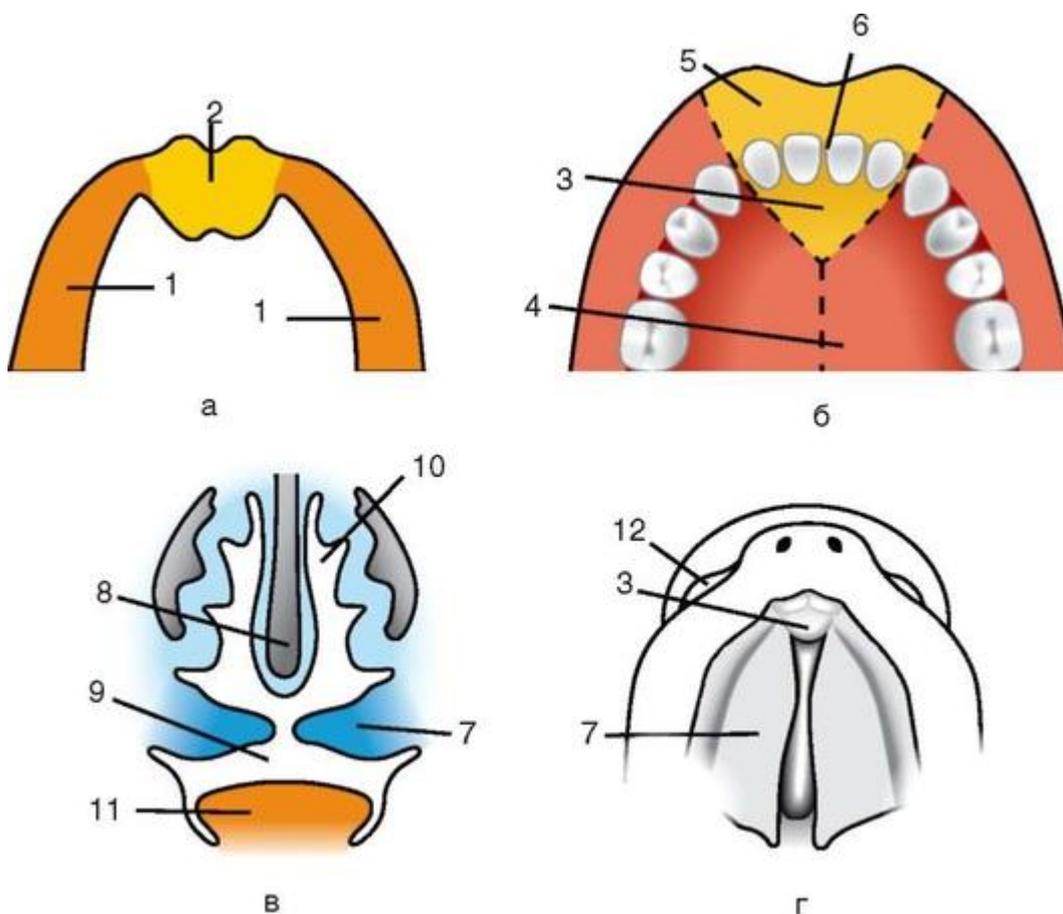


Рис. 7.30. Формирование твердого неба: а - схематичное изображение верхней челюсти (вид со стороны ротовой полости); б - 10-я неделя развития (вид со стороны ротовой полости); в - 8-я неделя развития (фронтальный срез); г - 8-я неделя развития (вид со стороны ротовой полости): 1 - верхнечелюстной отросток; 2 - слившиеся медиальные носовые отростки; 3 - первичное небо; 4 - вторичное небо (латеральные небные выросты); 5 - фильтр губы; 6 - верхняя челюсть с резцами; 7 - латеральный небный вырост; 8 - носовая перегородка; 9 - ротовая полость; 10 - носовая полость; 11 - язык; 12 - глаз

В формировании слизистой оболочки языка участвует несколько структур дна ротовой полости. Тело языка образуется при срастании парных латеральных утолщений - **латеральных язычных бугорков** и расположенного между ними небольшого срединного возвышения, называемого *tuberculum impar* (рис. 7.31). Считают, что тело языка является производным клеточного материала области первой висцеральной дуги. В формировании корня языка принимает участие *copula* (**скоба**) - срединное возвышение, расположенное позади *tuberculum impar* и вклю-

чающее клеточный материал областей второй, третьей и четвертой висцеральных дуг. После срастания всех закладок и окончательного формирования языка его тело отделено от корня **терминальной бороздой** (*sulcus terminalis*), в центре которой находится **слепое отверстие** (*foramen coecum*) - след впячивания дна глотки, из которого возникает закладка щитовидной железы (см. рис. 7.27). Именно оно считается границей между телом и корнем языка.

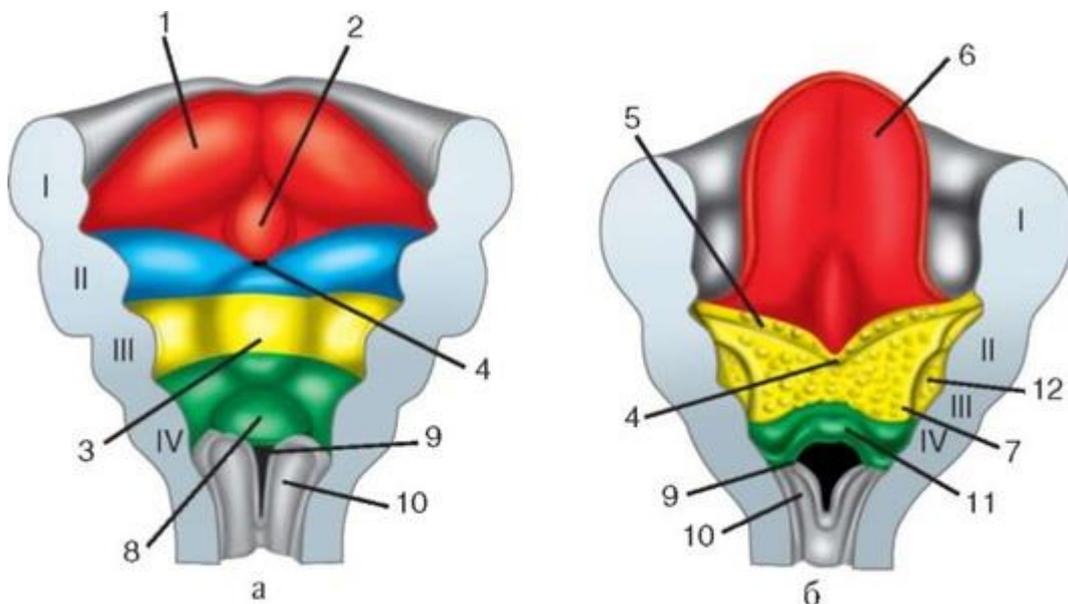


Рис. 7.31. Развитие языка: а - 5-недельный зародыш; б - 5-месячный плод; 1 - латеральный язычный бугорок; 2 - *tuberculum impar* 3 - *copula* (скоба); 4 - *foramen coecum*; 5 - терминальная борозда; 6 - тело языка; 7 - корень языка; 8 - закладка надгортанного хряща; 9 - голосовая щель; 10 - черпаловидный бугорок; 11 - надгортанник, нёбная миндалина. I-IV - номера висцеральных дуг

Позднее язык почти полностью отделяется от дна ротовой полости, и связь между ними сохраняется в виде складки слизистой оболочки - уздечки языка.

Интересный пример органогенеза - формирование **зубов**, в котором участвуют покровная эктодерма - эпителий стомодеума (эмаль) и мезенхимные клетки, происходящие из нервного гребня (дентин, цемент и пульпа) (рис. 7.32). В ходе развития между мезенхимными и эпителиальными структурами отмечаются индукционные взаимодействия.

В течение жизни развивается два поколения зубов. Смена зубов происходит в детстве, первые зубы называют **молочными**. Их насчитывается 20: по 10 в верхней и в нижней челюсти.

Молочные зубы полностью прорезываются приблизительно в возрасте 2 лет. Этот набор зубов служит ребенку последующие 4 года, после чего молочные зубы постепенно выпадают и замещаются **постоянными зубами** (второе поколение зубов), которые функционируют у человека в оставшуюся часть жизни. Период смены зубов продолжается приблизительно от 6 до 12 лет. Постоянных зубов 32: 16 верхних и 16 нижних (добавляются большие коренные зубы) (см. рис. 7.32). По форме они сходны с молочными, но имеют более крупные размеры.

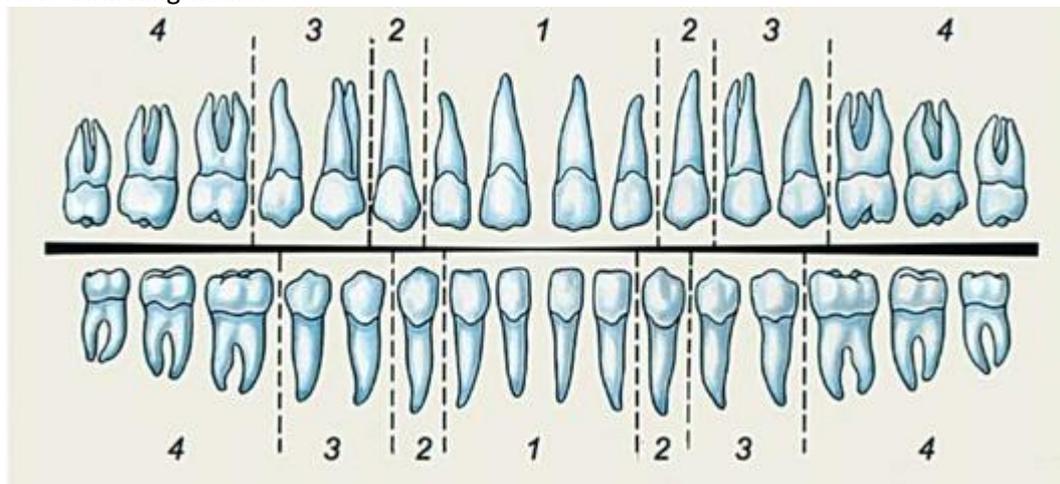


Рис. 7.32. Постоянные зубы человека: 1 - резцы; 2 - клыки; 3 - малые коренные зубы; 4 - большие коренные зубы

Закладка и образование **зубных зачатков** молочных зубов начинаются с 6-7 нед внутриутробного развития. Эпителий ротовой полости погружается в подлежащую мезенхиму в виде плотного тяжа, называемого **зубной пластинкой** (рис. 7.33). На зубной пластинке появляются мелкие эпителиальные выпячивания - **зубные зачатки**, из которых будут развиваться молочные зубы. По мере роста зубной пластинки каждый зубной зачаток увеличивается в размере, глубже внедряется в мезенхиму и принимает форму перевернутой чаши. Эта структура образует **эмалевый орган**, а нижележащая мезенхима, заполняющая полость чаши, формирует **зубной сосочек**. В дальнейшем развитии последний образует пульпу зуба. На 3-м месяце внутриутробного развития эмалевый орган увеличивается в размерах, изменяет форму и постепенно отделяется от зубной пластинки. Форму будущего зуба определяет мезенхимный компонент. При сочетании *in vitro* мезенхимы закладки коренного зуба (моляра) с эпителиальным компонентом закладки резца, развивается моляр. И наоборот, в результате комбинации эктодермы моляра и мезенхимы резца развивается резец.

В ходе гистогенеза тканей зуба, который начинается с конца 4-го месяца, образуются **дентин, эмаль и пульпа** (рис. 7.33, г). **Эмаль**

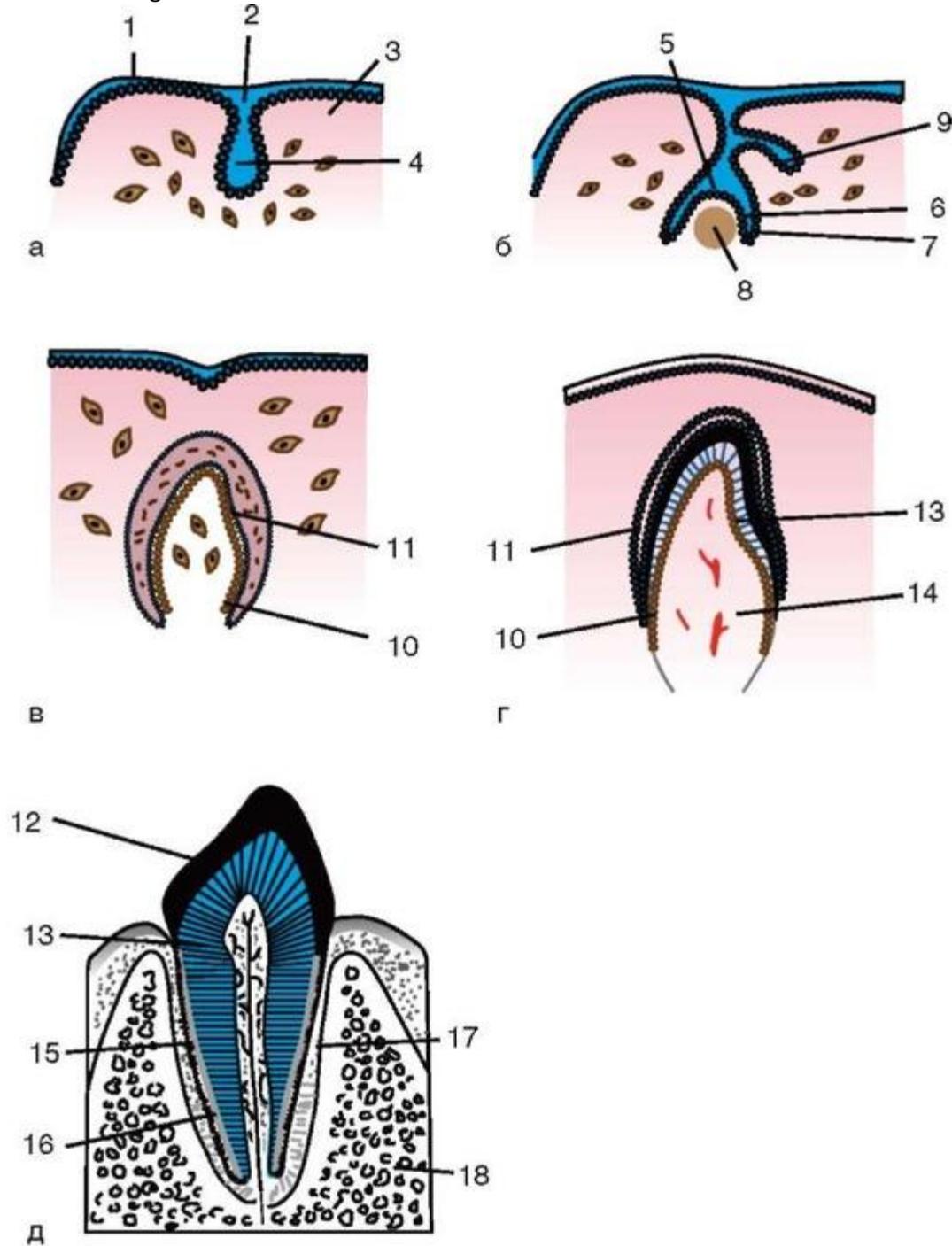


Рис. 7.33. Развитие зуба: а - 8-недельный зародыш; б - 10-недельный плод; в - 3-месячный плод; г - 6-месячный плод; д - после прорезывания; 1 - эпителий ротовой полости; 2 - зубная пластинка; 3 - мезенхима; 4 - зачаток молочного зуба; 5 - эмалевый орган; 6 - внутренний слой эмалевого органа; 7 - наружный слой эмалевого органа; 8 - зубной сосочек; 9 - зачаток постоянного зуба; 10 - одонтобласты; 11 - амелобласты; 12 - эмаль; 13 - дентин; 14 - пульпа зуба; 15 - цементобласты; 16 - цемент; 17 - периодонт; 18 - кость альвеолы

продуцируют клетки внутреннего слоя эмалевого органа - **энамело-бласты**. Их отростки выделяют органическую основу эмали - эмалевые призмы, которые затем обызвествляются. Источник развития **дентина** - **одонтобласты (дентинобласты)**, поверхностные клетки пульпы. Верхушка дентинобластов также имеет отростки, выделяющие органические вещества фибриллярной структуры, называемые **предентин** и образующие матрицу дентина. С конца 5-го

Источник KingMed.info

месяца в предентине откладываются соли кальция и фосфора, формируется окончательный дентин. Образование дентина и эмали отличается от развития кости тем, что клетки не замуровываются в межклеточное вещество, а отодвигаются: амелобласты - наружу, одонтобласты - внутрь. Кроме того различается содержание органических веществ в этих тканях: кость содержит примерно 45% органики, дентин - 28%, а эмаль - меньше 5%.

На наружной поверхности дентина из окружающей зуб мезенхимы (**зубного мешочка**) незадолго до прорезывания зуба появляются **це-ментобласты**. Эти клетки выделяют коллагеновые волокна и межклеточное вещество, образуя **цемент**. Он формируется только через 4-5 мес после рождения при развитии корней зубов. Из наружного слоя зубного мешочка формируется зубная **связка (периодонт)** (рис. 7.33, д). Таким образом, во внутриутробном развитии происходит развитие только коронок молочных зубов.

Прорезывание зуба обеспечивается тремя факторами. Первый и важнейший - рост и развитие корня, приводящие к выталкиванию коронки через слизистую оболочку. Вторым фактором - рост пульпы, приводящий к повышению давления внутри зубного зачатка. Кроме того, на дне зубной альвеолы происходит дополнительное отложение костной ткани слоями.

Закладка постоянных зубов начинается очень рано, в начале 5-го месяца внутриутробного развития. Зачаток постоянного зуба находится позади зачатка молочного, и развивающийся корень последнего в первые два года после рождения оказывает индукционное влияние на развитие зачатка постоянного зуба. Гистологические процессы, в результате которых формируются молочные и постоянные зубы, одинаковы. Когда прорезываются молочные зубы, в зачатках постоянных происходит образование эмали и дентина. Некоторое время они пребывают в латентном состоянии и активируются только после достижения челюстью достаточно больших размеров. В процессе замены рост постоянного зуба и давление его эмали на корень молочного приводят к рассасыванию остеокластами (клетками-разрушителями костной ткани) более мягкой ткани - дентина молочного зуба. Последний выталкивается и заменяется постоянным.

Развитие отделов **пищеварительной** системы сложно рассмотреть в деталях, так как кишечная трубка сильно удлиняется, дифференцируется и связана в своем развитии со многими другими системами: эндокринной, дыхательной, выделительной, кровеносной, нервной и вторичной полостью - целомом. Рассмотрим только наиболее ранние и общие процессы, происходящие в кишечной трубке, а также изменения ее связи с желточным мешком.

Кишечная трубка возникает из энтодермы крыши желточного мешка и прилегающего к ней висцерального листка мезодермы в процессе обособления тела эмбриона от внезародышевых частей с помощью головной, хвостовой и боковых туловищных складок (см. рис. 7.24, б₂, б₃). На 4-й неделе она представлена сравнительно простой трубкой, состоящей из передней кишки, слепо замкнутой спереди стомодеальной (ротовой) пластинкой, средней кишки, связанной с желточным мешком посредством желточного стебелька (протока), и задней кишки, слепо замкнутой на хвостовом конце клоакальной (анальной) мембраной (рис. 7.34).

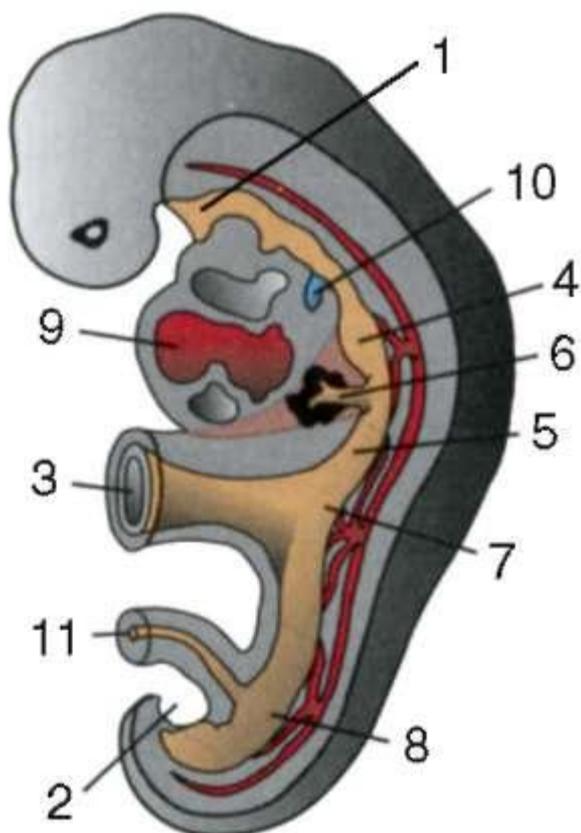


Рис. 7.34. Пищеварительная система 4-недельного зародыша: 1 - стомодеальная пластинка; 2 - клоакальная мембрана; 3 - желточный проток; 4 - желудок; 5 - двенадцатиперстная кишка; 6 - зачаток печени; 7 - средняя кишка; 8 - задняя кишка; 9 - сердце; 10 - закладка органов дыхания; 11 - урахус

За период от 4-й до конца 8-й недели эмбрионального (внутриутробного) развития кишка удлиняется и начинает дифференцироваться. Из переднего ее отдела формируются глотка, пищевод, желудок и двенадцатиперстная кишка с ее производными (печень и поджелудочная железа) до впадения в нее общего желчного протока.

Средняя кишка образует *U-образную* петлю, которая связана с желточным мешком посредством желчного протока (рис. 7.35, а). Участок кишки между желточным стебельком и желудком превратится в тонкую кишку, а участок, ле-

жащий каудальнее желчного протока, - в толстую кишку. Средняя кишка удлиняется, часть ее выпячивается в полость брюшного стебелька, образуя грыжеподобное выпячивание брюшной стенки зародыша.

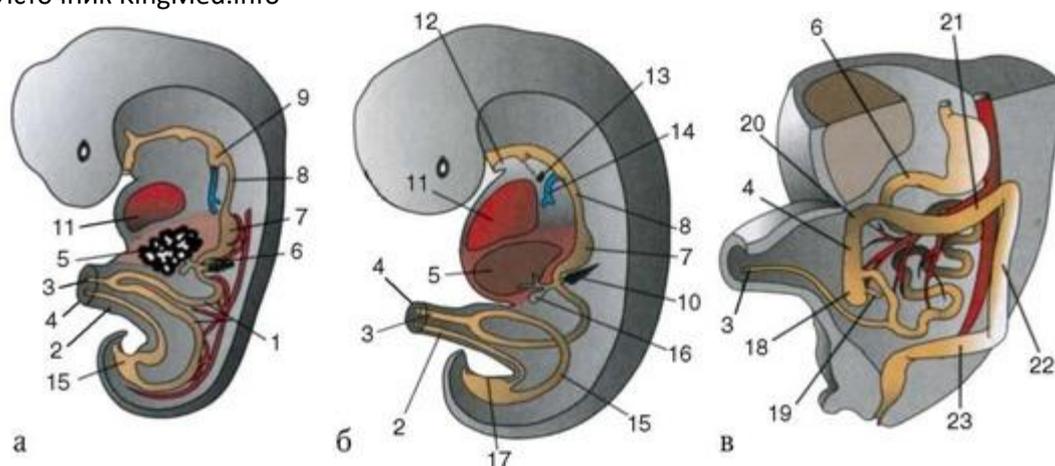


Рис. 7.35. Развитие пищеварительной системы человека: а - на 32-е сутки; б - на 36-е сутки; в - более поздние стадии; 1 - U-образная петля кишки; 2 - уракус; 3 - желточный проток; 4 - брюшной стебелек (пупочный канатик); 5 - печень; 6 - двенадцатиперстная кишка; 7 - желудок; 8 - пищевод; 9 - гортань; 10 - поджелудочная железа; 11 - сердце; 12 - язык; 13 - закладка щитовидной железы; 14 - зачаток трахеи и легких; 15 - задняя кишка; 16 - желчный пузырь; 17 - клоакальная мембрана; 18 - слепая кишка; 19 - аппендикс; 20-23 - отделы толстой кишки

За это же время некоторые участки кишки, вращаясь, изменяют свое положение (рис. 7.35, б). К 10-й неделе выступающая часть кишечной петли втягивается назад через пупочный ободок, занимая свое окончательное положение в брюшной полости. Несколько ранее в месте перехода тонкой кишки в толстую развивается слепая кишка. Сначала она увеличивается в размере, но к 3-му месяцу ее дистальная часть начинает отставать от роста других частей (неравномерность роста), в результате чего диаметр этой части оказывается значительно меньшим и образуется червеобразный отросток. Из задней кишки формируется толстая кишка ниже селезеночного угла, в том числе прямая (рис. 7.35, в). Развитие клоакального конца задней кишки тесно связано с развитием мочеполювого отверстия (рис. 7.36). Уроректальная перегородка, разделяющая клоаку на мочеполювой синус и прямую кишку, образуется на 5-6-й неделе. Прорыв анальной мембраны происходит на 8-й неделе.

На 2-м месяце внутриутробного развития начинается быстрая пролиферация эпителия пищевода и двенадцатиперстной кишки, что приводит к временному закрытию их просвета. К концу 2-го месяца происходит реканализация названных органов, т.е. восстановление проходимости.

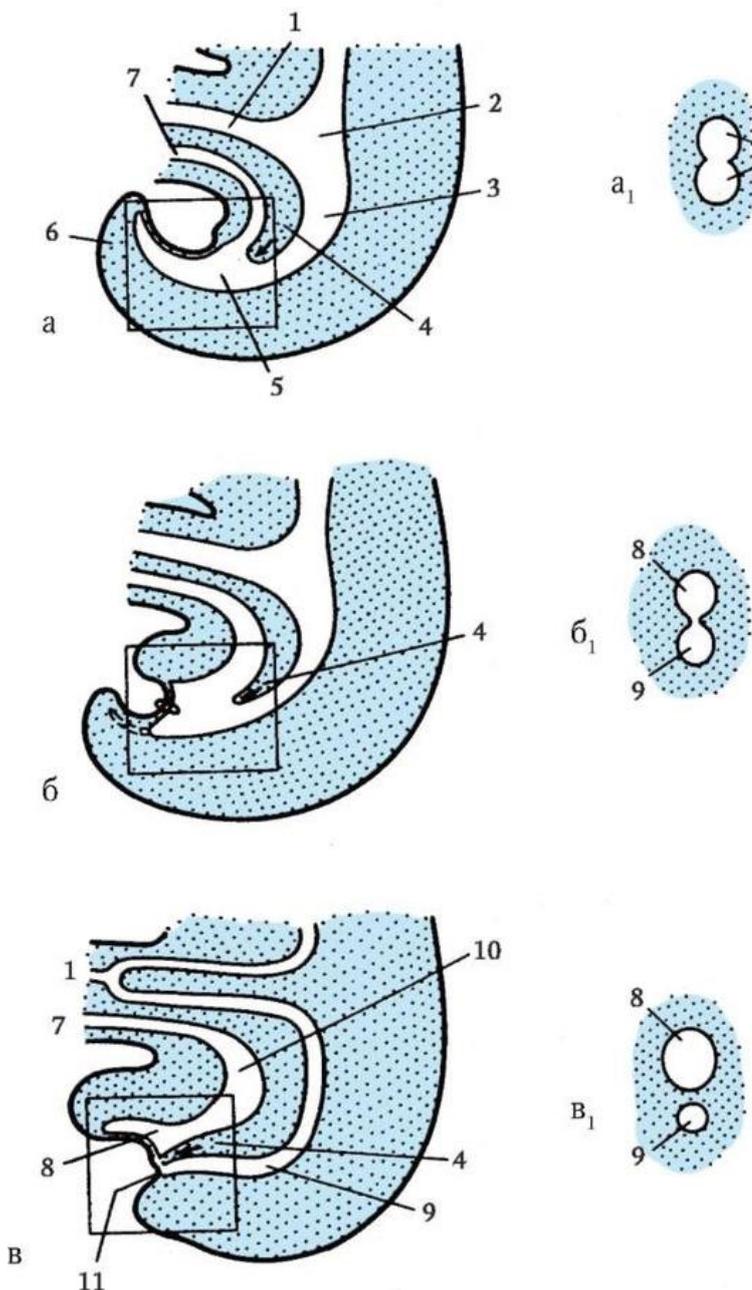


Рис. 7.36. Развитие клоакальной области задней кишки у зародыша человека: а - на 4-й неделе; б - на 6-й неделе; в - на 7-й неделе; а₁ б₁ и в₁ - поперечные срезы через клоаку (уровни среза обозначены квадратами на рис. а; б; в). 1 - желточный стебелек; 2 - средняя кишка; 3 - задняя кишка; 4 - мочеполовая перегородка; 5 - клоака; 6 - хвост; 7 - аллантоис; 8 - мочеполовой синус; 9 - прямая кишка; 10 - мочевого пузыря; 11 - анальная мембрана; стрелками показано направление роста

Сердце человека начинает развиваться с конца 3-й - начала 4-й недели из спланхномезодермы в виде парных зачатков, расположенных под глоткой (рис. 7.37). По мере отграничения тела самого зародыша туловищными складками и замыкания передней кишки с брюшной стороны парные эндокардиальные трубки смыкаются в одну, лежащую по средней линии (см. рис. 7.37). Для земноводных доказано существование индукционного действия энтодермы на прекардиальную мезодерму. Об этом же свидетельствует опыт на курином зародыше, когда после удаления дна передней кишки был получен зародыш с двойным сердцем. Парные

закладки целомических полостей сливаются на брюшной стороне, образуя перикардальную полость.

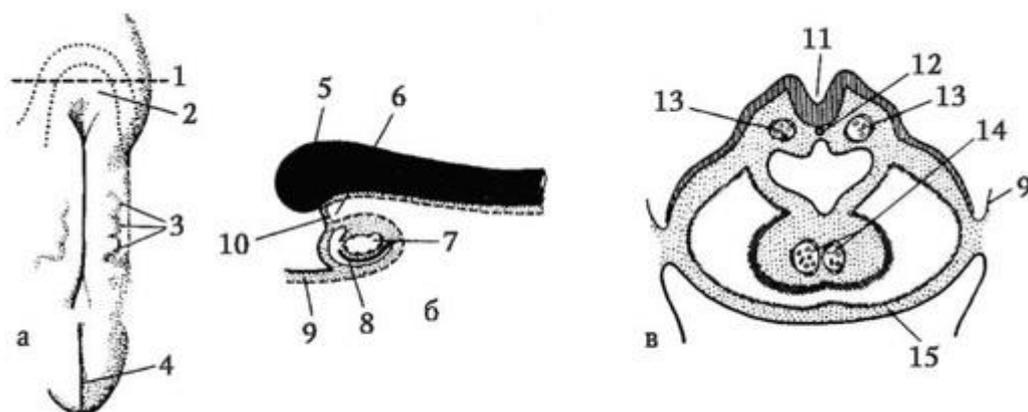


Рис. 7.37. Развитие сердца человека на 21-22-е сутки: а - общий вид зародыша; б - продольный срез головного конуса зародыша; в - поперечный срез зародыша: 1 - уровень среза; 2 - нервный валик; 3 - сомиты; 4 - первичная полоска; 5 - мозг; 6 - передняя кишка; 7 - сердечная трубка; 8 - перикард; 9 - амнион; 10 - ротоглоточная мембрана; 11 - нервный желобок; 12 - хорда; 13 - парные закладки спинной аорты; 14 - сливающиеся сердечные трубки; 15 - желточный мешок
Региональная дифференцировка сердца начинается с быстрого удлинения первичной сердечной трубки, что приводит к ее изгибу и приобретению S-образной формы (рис. 7.38). Отмечено, что образование изгиба с локальными изменениями формы клеток вдоль сердечной трубки стимулируется из самой сердечной трубки. Будучи эксплантирована (ситуация «вне организма», или *ex vivo*), сердечная трубка сохраняет способность к образованию S-образной структуры.

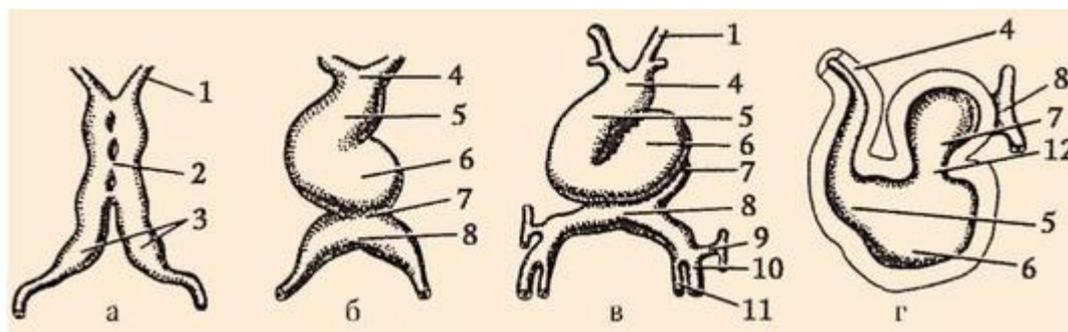


Рис. 7.38. Развивающееся сердце человека: а - на 21-22-е сутки; б - на 23-е сутки; в - на 24-е сутки (вид с брюшной стороны); г - на 28-е сутки (продольный срез): 1 - первая пара дуг аорты; 2 - сливающиеся сердечные трубки; 3 - несливающиеся сердечные трубки; 4 - артериальный ствол; 5 - луковица сердца; 6 - желудочек; 7 - предсердие; 8 - венозный синус; 9 - кювьеров проток; 10 - пупочная вена; 11 - желточная вена; 12 - предсердно-желудочковый канал

На первоначально хвостовом конце находится венозный синус, в который впадают крупные вены: кювьеровы протоки, пупочные и желточные. Венозный синус позже войдет в состав правого предсердия. Краниальнее венозного синуса из расширенной части сердечной трубки образуется предсердие, а из изогнутой средней части - желудочек. Переходную область, где желудочек сужается, называют конусом или луковицей. Позже он будет включен в стенку правого желудочка. Конус переходит в артериальный ствол, от которого отходят корни брюшной аорты.

После образования предсердия и желудочка проявляются внешние признаки предстоящего разделения сердца на правую и левую половины, появляется срединная борозда. В этот момент в тканях формирующегося сердца отмечаются очаговая гибель клеток и взаимодействие внеклеточных и клеточных элементов факторов. Некоторое время спустя на внутренней поверхности желудочка, соответственно уровню наружной борозды, образуется перегородка из мышечных тяжей, растущих от верхушки сердца по направлению к предсердию. На дорсальной и вентральной стенках суженного предсердно-желудочкового канала из рыхлой мезенхимы образуются эндокардиальные подушки. Позднее они трансформируются в плотную соединительную ткань, срастаются и разделяют канал на правый и левый протоки. В то же время появляется первичная срединная перегородка, которая позднее заменяется вторичной. В ней имеется отверстие, называемое овальным, через которое кровь из правого предсердия попадает в левое. Это необходимо для кровообращения плода.

Одновременно с изменениями в основной части сердца как самостоятельного органа происходит разделение артериального ствола на два канала. Этот процесс начинается в корне брюшной аорты между четвертой и шестой висцеральными дугами. Разделение происходит за счет формирования продольных складок. Складки располагаются по спирали, растут внутрь артериального ствола и, встречаясь, делят его на аорту и легочный ствол. Кроме того, складки распространяются в сторону конуса, где из специализированных участков образуются полулунные клапаны аорты и легочного ствола, и далее в желудочки, где встречаются с перемещающейся эндокардиальной тканью предсердно-желудочкового канала и межпредсердной перегородки. Это приводит к полному зарастанию межжелудочкового отверстия.

До конца внутриутробной жизни остаются открытыми только клапан в овальном отверстии межпредсердной перегородки и артериальный (боталлов) проток, соединяющий легочный ствол с аортой. О нем подробнее будет сказано ниже. Артериальный проток служит для отведения части крови из правого желудочка в аорту, минуя легкие, пока они не достигли необходимого развития и не получили функционального стимула в связи с началом дыхательной функции (рис. 7.39).

Крупные артерии развиваются в комплексе с сердцем, начиная с 4-й недели. Первичная система кровообращения эмбриона функционирует с конца 5-й недели, к концу 8-й недели реализуется основной план строения артериальной системы. Закладывающиеся на 4-й неделе парные висцеральные дуги получают соответствующее артериальное обеспечение в виде аортальных дуг. Эти дуги аорты поднимаются от артериального ствола, а точнее, от его расширенной части - артериального мешка (называемого также брюшной или восходящей аортой) - и заканчиваются в корнях спинной, или нисходящей, аорты (см. рис. 7.27). Несмотря на то что закладывается шесть пар аортальных (висцеральных) дуг, они не сосуществуют одновременно. В тот период, когда формируется шестая пара дуг, две первые пары уже дегенерируют. Пятая дуга появляется лишь на короткое время в виде рудиментарного сосуда.

В формировании магистральных сосудов существенную роль играют корни брюшной и спинной аорты, а также третья, четвертая и шестая пары аортальных дуг (рис. 7.40).

Проксимальные части третьей пары образуют общие сонные артерии (рис. 7.41). Левая четвертая дуга составляет часть дуги аорты.

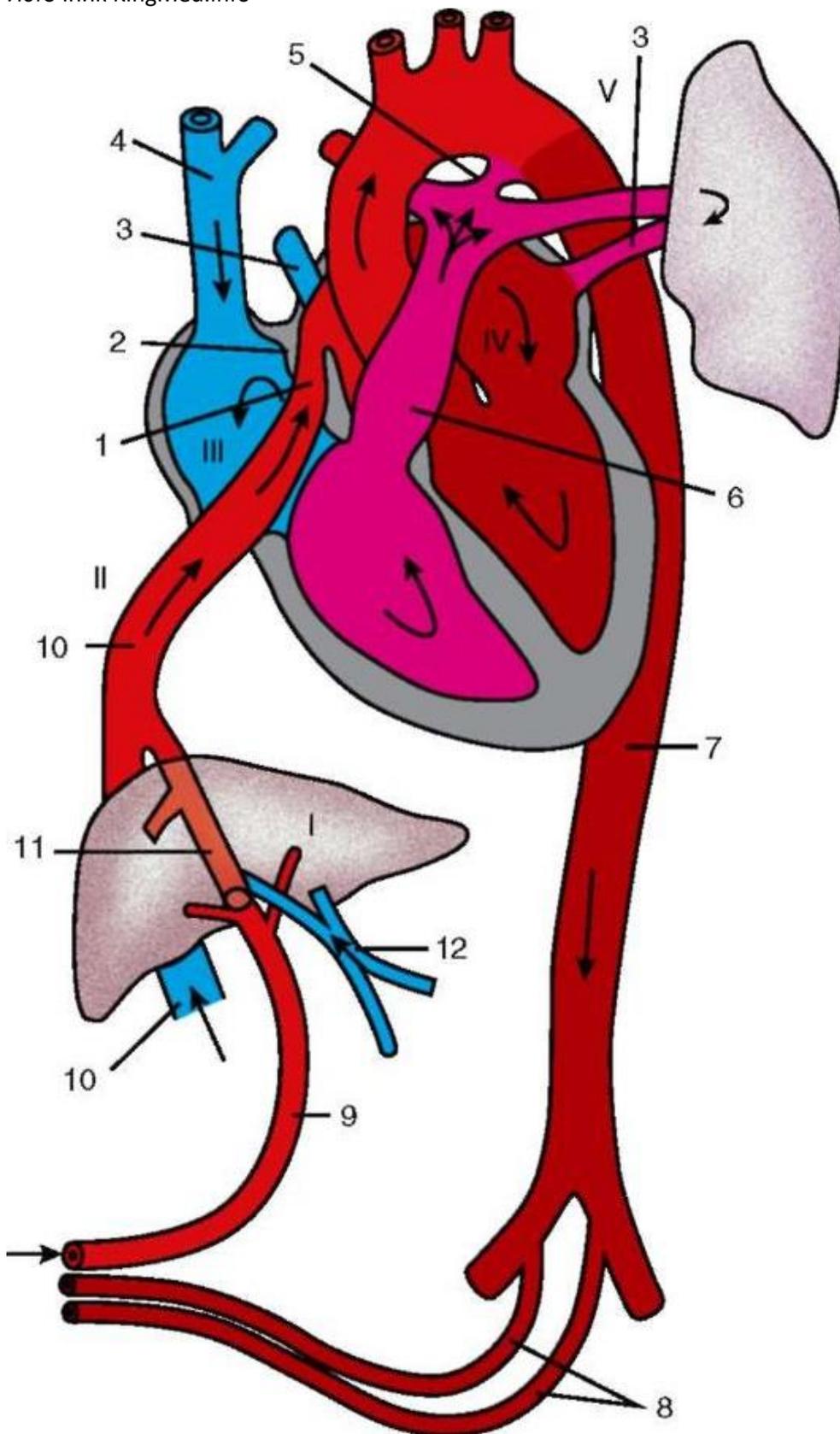


Рис. 7.39. Схема кровообращения плода: 1 - овальное окно; 2 - межпредсердная перегородка; 3 - легочная вена; 4 - верхняя полая вена; 5 - артериальный (боталлов) проток; 6 - легочная артерия; 7 - нисходящая аорта; 8 - пупочные артерии; 9 - пупочная вена; 10 - нижняя полая вена; 11 - *ductus venosus*; 12 - портальная вена печени. I - печень; II - нижняя полая вена; III - правое предсердие; IV - левое предсердие; V - нисходящая аорта

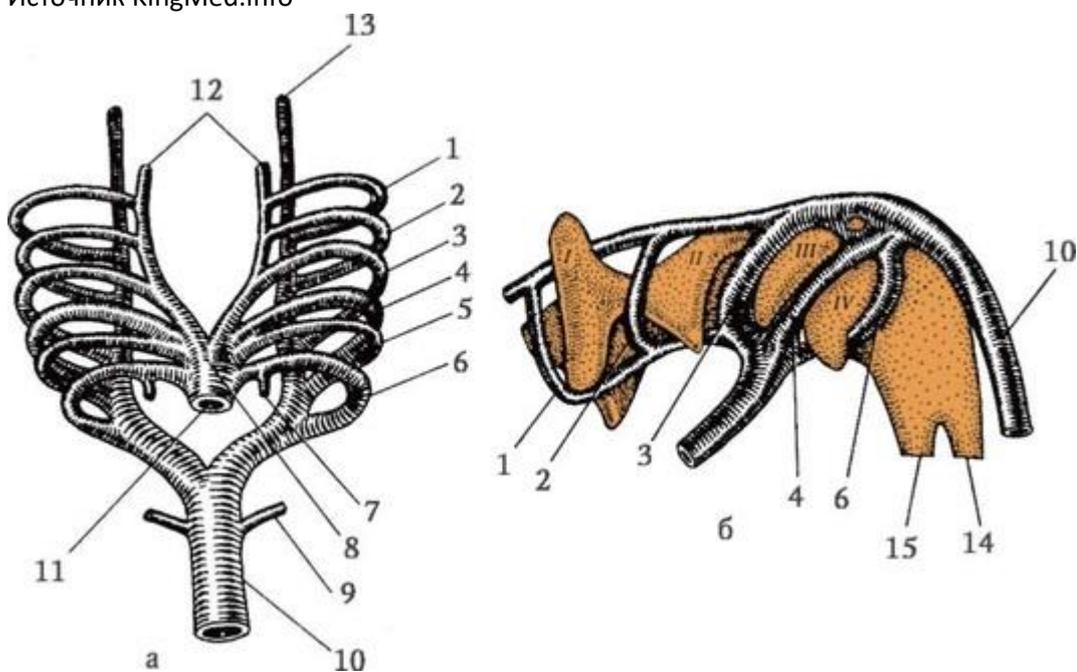


Рис. 7.40. Развитие аортальных дуг: а - вид с брюшной стороны: 1-6 - аортальные дуги; 7 - легочная артерия; 8 - артериальный мешок, брюшная аорта; 9 - седьмая межсегментарная артерия, подключичная; 10 - спинная нисходящая аорта; 11 - артериальный ствол; 12 - наружная сонная артерия, корень брюшной восходящей аорты; 13 - внутренняя сонная артерия, корень спинной аорты

Правая четвертая дуга становится проксимальной частью правой подключичной артерии. Дистальная часть этой артерии образуется из правой спинной аорты. Проксимальная часть левой шестой дуги превращается в проксимальную часть левой легочной артерии, а дистальная часть - в артериальный (боталлов) проток. Проксимальная часть правой шестой дуги образует проксимальную часть правой легочной артерии, а дистальная часть редуцируется. Корни спинной аорты очень рано сливаются в непарную спинную аорту, но на 7-й неделе развития дистальная часть правого корня спинной аорты обычно включается в правую подключичную артерию, о чем уже было сказано выше. Это становится возможным благодаря обратному развитию участка, соединяющего правый корень с левым. Изложение материала, касающегося развития сердца и крупных артерий, дает основания для сопоставлений онтогенеза человека с филогенетическим развитием позвоночных (см. гл. 14), а также позволяет приблизиться к пониманию механизмов возникновения врожденных пороков развития сердца и сосудов.

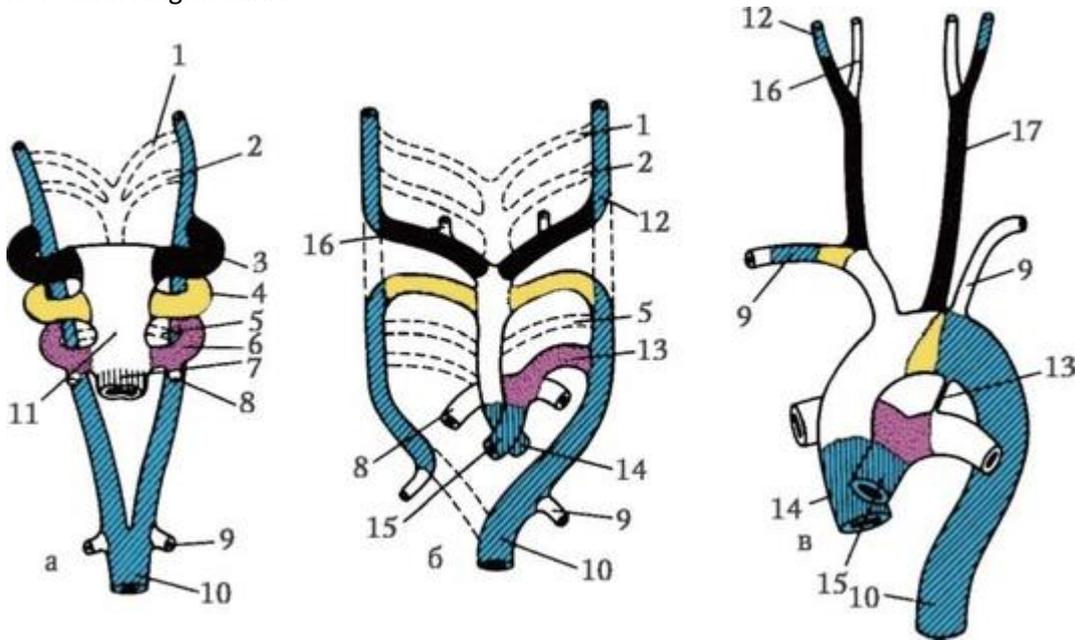


Рис. 7.41. Формирование крупнейших артерий, производных артериального ствола, аортального мешка, аортальных дуг и спинной аорты: а - 6-недельный зародыш; б - 7-недельный зародыш; в - 6-месячный плод; 1-6 - аортальные дуги; 7 - артериальный ствол; 8 - легочная артерия; 9 - подключичная артерия; 10 - спинная нисходящая аорта; 11 - аортальный мешок; 12 - внутренняя сонная артерия; 13 - артериальный (боталлов) проток; 14 - восходящая аорта; 15 - легочный ствол; 16 - наружная сонная артерия; 17 - общая сонная артерия

Вопросы для самоконтроля

1. Какие типы онтогенеза существуют? Перечислите и охарактеризуйте основные этапы онтогенеза.
2. Каковы особенности строения и функций половых клеток?
3. Как осуществляется оплодотворение, и какие этапы включает этот процесс?
4. Охарактеризуйте сущность и морфологические формы стадий эмбрионального развития у представителей разных классов хордовых (дробления, гаструляции, органогенеза и формирования профизорных органов).
5. Каковы особенности эмбрионального развития млекопитающих?
6. Приведите примеры эмбрионального развития органов человека, отражающего эволюцию предковых групп хордовых животных.

ЗАКОНОМЕРНОСТИ ИНДИВИДУАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ ОРГАНИЗМОВ

8.1. основные концепции в биологии индивидуального развития

В предыдущих главах были рассмотрены генетические закономерности, определяющие формирование определенного фенотипа, изложено основное содержание стадий онтогенеза, последовательно и закономерно сменяющих друг друга. Все эти сведения не дают, однако, ответа на вопрос, почему и каким образом генотип реализуется в фенотип в виде тех или иных клеточных и системных процессов, в виде сложных пространственных и упорядоченных во времени онтогенетических преобразований.

При сравнении зиготы и половозрелой особи, которые, по сути, являются двумя разными онтогенетическими стадиями существования одного и того же организма, обнаруживаются очевидные различия, касающиеся по крайней мере размеров и формы. Начиная с XVII в. ученые пытались познать и объяснить процессы, приводящие к этим количественным и качественным изменениям особи.

Первоначально возникла гипотеза, согласно которой онтогенез рассматривали лишь как рост расположенных в определенном пространственном порядке предсуществующих структур и частей будущего организма. В рамках этой гипотезы, получившей название **преформизма**, каких-либо новообразований или преобразований структур в индивидуальном развитии не происходит. Логическое завершение идеи преформизма заключается в допущении абсурдной мысли о «заготовленности» в зиготе и даже в половых клетках прародителей структур организмов всех последующих поколений, как бы вложенных последовательно наподобие деревянных матрешек.

Альтернативная концепция **эпигенеза** была сформулирована в середине XVIII в. Ф.К. Вольфом, впервые обнаружившим новообразование нервной трубки и кишечника в ходе эмбрионального развития. Индивидуальное развитие стали связывать целиком с качественными изменениями, полагая, что структуры и части организма возникают как новообразования из бесструктурной яйцеклетки.

В XIX в. К. Бэр впервые описал яйцо млекопитающих, в том числе и человека, а также зародышевые листки и обнаружил сходство плана строения зародышей различных классов позвоночных - рыб, амфибий, рептилий, птиц, млекопитающих. Он же обратил внимание на преемственность в этапах развития - от более простого к более сложному. Бэр рассматривал онтогенез не как **предобразование**, не как **новообразование** структур, а как их **преобразование**, что вполне согласуется с современными представлениями. Выяснение конкретных клеточных и системных механизмов таких преобразований составляет **основную проблему современной биологии развития**. Увеличение массы тела особи, т.е. ее рост, и появление новых структур в ходе ее развития, называемое морфогенезом, нуждаются в объяснении. Рост и морфогенез подчиняются законам, которые обуславливают приуроченность конкретных процессов онтогенеза к определенному месту зародыша и периоду эмбриогенеза. Отдельные стадии индивидуального развития отличаются также определенной скоростью протекания с характерным качественным и количественным результатом.

Биология развития изучает пути генетического контроля индивидуального развития и особенности реализации генетической программы в фенотип в зависимости от условий. Под условиями понимают различные внутриуровневые и межуровневые процессы и взаимодействия: внутригеномные (внутригенетические), клеточные, межклеточные, тканевые,

Источник KingMed.info

внутриорганные, организменные, популяционные, экологические. Можно сказать, что усилия исследователей в области биологии развития концентрируются вокруг стержневой проблемы генетической предопределенности и лабильности онтогенетических процессов, что в известном смысле на ином уровне познания возвращает нас к идеям преформизма и эпигенеза (неопреформизма и эпигенеза).

Не менее важны исследования конкретных онтогенетических механизмов роста и морфогенеза. К ним относятся следующие клеточные механизмы: пролиферация, или размножение клеток, миграция, или перемещение клеток, сортировка клеток, их запрограммированная гибель, дифференцировка клеток, контактные взаимодействия клеток (индукция и компетенция), дистантные взаимодействия клеток, тканей и органов (паракринные, гуморальные и нервные механизмы интеграции). Все эти процессы носят избирательный характер, т.е. протекают в определенных пространственно-временных рамках с определенной интенсивностью, подчиняясь принципу целостности развивающегося организма. Биология развития стремится выяснить степень и конкретные пути контроля со стороны генома и одновременно уровень автономности различных процессов в ходе онтогенеза.

8.2. элементарные клеточные механизмы онтогенеза

В онтогенезе особи происходят сложнейшие преобразования: осуществляется дифференциация частей развивающегося организма (морфогенез), формирование его внешней и внутренней структуры (морфогенез), рост. В основе этих преобразований лежат клеточные и системные механизмы развития. К **клеточным механизмам** относят размножение, перемещения, избирательную сортировку, дифференцировку, запрограммированную гибель клеток. Важной особенностью действия этих механизмов является их **избирательность**, которая означает, что тот или иной механизм реализуется в определенное время развития в определенном месте развивающегося организма с определенной интенсивностью и скоростью и приводит к конкретному качественному и количественному результату. Строгая закономерность действия клеточных механизмов в онтогенезе особи регулируется **системными механизмами** развития, к которым относят межклеточные взаимодействия, взаимодействия клеточных комплексов, частей и структур зародыша (эмбриональная индукция), нервную и гуморальную регуляцию, образование морфогенетических полей.

8.2.1. ДЕЛЕНИЕ КЛЕТОК

Деление клеток (размножение, пролиферация) играет важную роль в процессах онтогенеза. Во-первых, благодаря делению из зиготы, которая соответствует одноклеточной стадии развития, возникает многоклеточный организм. Во-вторых, пролиферация клеток, происходящая после стадии дробления, обеспечивает рост организма. В-третьих, избирательному размножению клеток принадлежит заметная роль в обеспечении морфогенетических процессов. В-четвертых, в постнатальном периоде индивидуального развития благодаря клеточному делению осуществляется обновление многих тканей в процессе жизнедеятельности организма (физиологическая или гомеостатическая регенерация), а также заживление ран, восстановление утраченных органов (репаративная регенерация).

Зигота, бластомеры и соматические клетки организма, за исключением половых клеток в периоде созревания гаметогенеза, делятся митозом. Клеточное деление как таковое является одной из фаз клеточного цикла. От продолжительности интерфазы (G_1 -, G_2 -периодов) зависит частота последовательных делений в ряду клеточных поколений. В свою очередь, интерфаза имеет разную продолжительность в зависимости от стадии развития зародыша, локализации и функции клеток.

Так, в периоде дробления эмбриогенеза митотические циклы сильно укорочены. Причины подобной модификации: отсутствие периода G_1 , а у ряда организмов и периода G_2 , ускорение репликации - подробно обсуждались в п. 7.4.1. В результате указанных изменений митотического цикла происходит выравнивание ядерно-цитоплазматического соотношения в клетках зародыша, при этом деления бластомеров осуществляются с очень высокой скоростью (рис. 8.1.) Последнее является важным фактором нормального развития зародыша. В результате такой «ускоренной» пролиферации осуществляется быстрое накопление значительного количества клеток. Было доказано, что зародыш или его структуры должны иметь необходимый минимум клеток для успешного протекания дальнейшего развития. Так, формирование полноценной бластулы мыши - ее кавитация, т.е. образование бластоцеля - требует наличия не менее 22-25 бластомеров в моруле. Для последующей успешной имплантации зародыша необходимо пороговое количество бластомеров внутренней клеточной массы бластоцисты. В экспериментах на амфибиях установлено, что при наличии менее 100 клеток в зачатке нервной трубки, образования этой структуры не происходит. Если при закладке верхней конечности в ее зачатке (почке) число клеток недостаточно, то развивается конечность с неполным числом пальцев. К концу стадии дробления восстанавливается соответствие структуры и продолжительности интерфазы ее обычным характеристикам, и все последующие деления клеток зародыша сопровождаются их ростом, вследствие чего происходит и рост организма в целом.

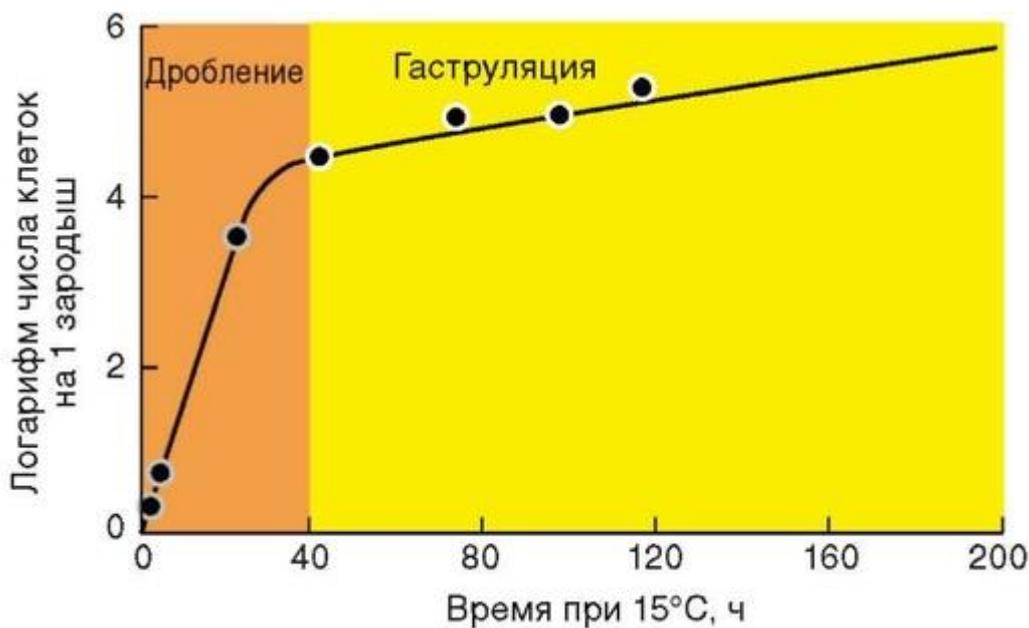


Рис. 8.1. Скорость образования новых клеток в ходе дробления и гаструляции у лягушки *Rana pipiens* (по: Sze, 1953)

В ходе гаструляции и всех последующих стадий развития становится очевидной избирательность пролиферации, т.е. клетки активно делятся преимущественно в определенных областях развивающегося организма. Избирательность размножения клеток зародыша дрозофилы представлена на рис. 8.2. Особое значение неравномерность размножения клеток приобретает в ходе органогенеза и гистогенеза. Там, где скорость клеточного деления высокая, происходят и качественные изменения в структуре эмбриональной закладки, т.е. формообразовательные процессы сопровождаются активным размножением клеток. Так, особенности пролиферации клеток передней части нервной трубки приводят к формированию головного мозга (рис. 8.3).

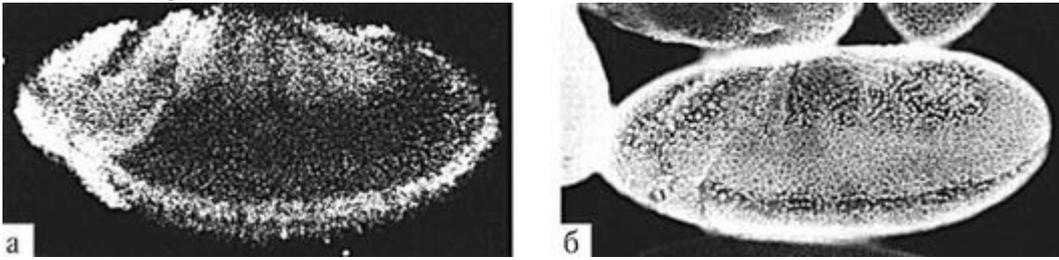


Рис. 8.2. Дифференциальная скорость размножения клеток в разных частях зародыша дрозофилы: а - автордиографическое выявление мРНК гена *string*, экспрессия которого наблюдается в активно делящихся клетках, б - регионы зародыша с различной митотической активностью клеток под световым микроскопом (по: S.F. Gilbert, 2005)

Еще одним примером избирательности размножения клеток может служить **аллометрия роста** - явление, при котором наблюдается неравномерный рост отдельных частей тела, благодаря которому достигается формирование нормального взрослого организма конкретного вида. Очень отчетливо это явление наблюдается, например, в развитии человека (рис. 8.4). При сравнении пропорций тела плода, новорожденного и взрослого становится очевидной более высокая скорость роста нижних конечностей по сравнению со скоростью роста головы.

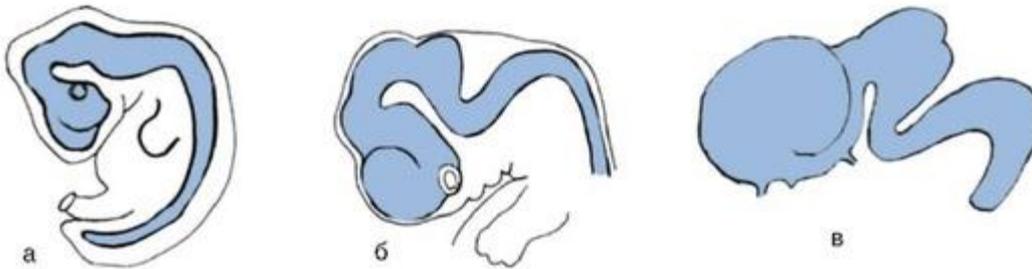


Рис. 8.3. Избирательное размножение клеток переднего конца нервной трубки при формировании головного мозга у зародыша человека: а - 4-недельный зародыш, б - 6-недельный зародыш, в - 8-недельный зародыш

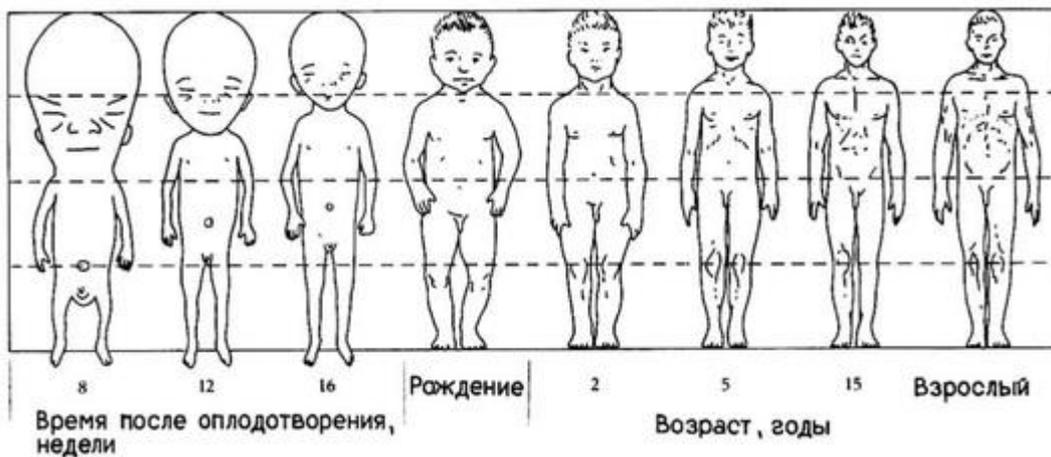


Рис. 8.4. Неравномерность роста в онтогенезе человека

Установлено формирование в процессе развития многих структур зародыша клетками, происходящими от небольшого числа или даже одной клетки. Совокупность клеток, являющихся потомками одной ро-доначальной, называют **клоном**. Примером подобного явления служит формирование всей мезодермы у моллюска *Dentalium* из единственного бластомера 4d. Его удаление в эксперименте приводило к отсутствию мезодермальных органов или частей органов

Источник KingMed.info

у взрослой особи. Не менее интересные данные получены благодаря работам, выполненным на зародышах мыши. Установлено, что организм развивается всего из трех клеток внутренней клеточной массы на стадии, когда бластоциста состоит из 64 клеток, а сама внутренняя клеточная масса содержит примерно 15 клеток. Показано также, что большие по объему участки центральной нервной системы образуются из определенных клеток формирующегося

организма. Важное следствие такой ситуации - то, что многие клетки раннего зародыша не участвуют в дальнейшем развитии. В большинстве случаев неясно, в какой именно срок происходит отбор родоначальных клеток и каков механизм этого отбора.

Очевидно, что соматические мутации в клетке-родоначальнице клона могут быть причиной **мозаицизма**, явления, при котором большие группы клеток многоклеточного организма отличаются по набору хромосом или аллельному составу. У человека результатом таких мутаций могут быть мозаичные формы хромосомных болезней, например синдрома Дауна. Известна также соматическая мутация - «белая прядь волос».

В сформированном организме способность клеток к делению также значительно различается. Некоторые клетки, например нейроны, вообще не делятся, в то время как в кровеносной и эпителиальной тканях продолжается активное размножение клеток. Практически не делящиеся в обычных условиях клетки таких органов, как печень и почки, при наличии стимула в виде воздействия гормональных или внутритканевых факторов, могут вступить в митотический цикл.

Среди стимулов, побуждающих клетки к делению, значительную часть составляют факторы роста, относящиеся к группе гистогормонов. Они продуцируются неспециализированными клетками, находящимися во всех тканях, и обладают **эндокринным** (действуют на отдаленные клетки-мишени через кровоток), **паракринным** (на соседние клетки путем диффузии), **аутокринным** (на сами клетки-продуценты) и даже интракринным (внутри клетки, не секретирясь, т.е. не выделяясь из клетки-продуцента) действием. Факторы роста - это по большей части пептиды с молекулярной массой 5000-50 000 кДа (дальтон, или Да - единица атомного веса, 1 кДа = 10^3 Да), индуцирующие синтез ДНК и вхождение клетки в митоз, однако они могут выполнять и другие функции.

Так, например, тромбоцитарный фактор роста (*PDGF*) стимулирует дифференцировку, гепатоцитарный фактор роста (*HGF*) служит хемоаттрактантом и изменяет подвижность клеток эпителия почки. Действие факторов роста необходимо рассматривать в связи с другими стимуляторами, прежде всего гормонами, и с учетом типа клеток-мишеней и их тканевого микроокружения. Фактор роста, активирующий митоз клеток одного типа, может действовать как ингибитор пролиферации клеток другого типа. Так, например, фактор роста эпидермиса (*EGF*) может подавлять пролиферацию клеток кишечного эпителия крыс, а полипептиды, стимулирующие рост недифференцированных эмбриональных клеток, останавливают пролиферацию лейкозных клеток и индуцируют их дифференцировку. Большинство факторов роста оказывает **митогенное (стимулирующее митоз)** действие, связываясь с рецепторами мембраны клетки, т.е. действуя как лиганды, что приводит к активации фермента, ассоциированной с этими рецепторами (рис. 8.5). Это ведет через те или иные посредники (сигналинги) к запуску каскадов митогенактивирующих протеинкиназ. Конечные ферменты этого каскада, фосфорилируя ряд транскрипционных факторов, активируют их, а они, в свою очередь, запускают экспрессию определенных генов. Среди последних гены, кодирующие *Cdk*, которые играют ключевую роль в поочередной смене фаз клеточного цикла, и их активаторные субъединицы - циклины (см. главу 3). На рис. 8.6 показано, в каких именно точках митотического цикла осуществляют свое действие различные *Cdk* и циклины.

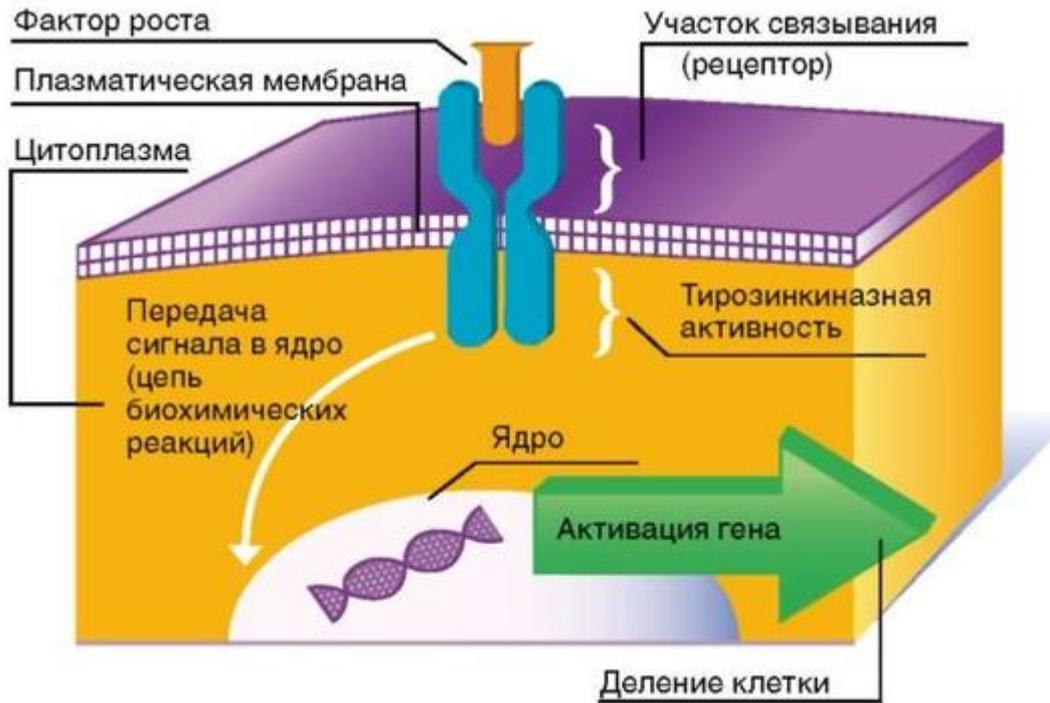


Рис. 8.5. Схема действия факторов роста

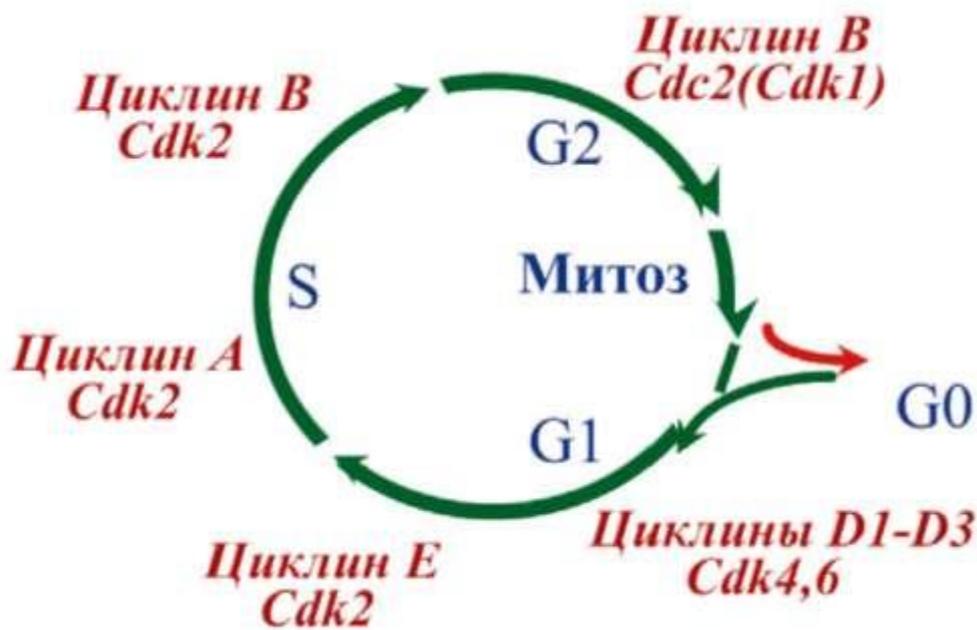


Рис. 8.6. Комплексы циклинциклинзависимая киназа (Cdk), контролирующие разные фазы клеточного цикла

Факторы роста, их рецепторы, участники передачи сигнала внутри клетки, транскрипционные факторы нередко являются продуктами экспрессии протоонкогенов. Это гены, осуществляющие контроль деления, роста, дифференцировки клеток и находящиеся в свою очередь под контролем ряда других генов. К настоящему времени идентифицировано более 100 протоонкогенов. Известно, что часть таких генов (в геноме человека их около 40), экспрессируется только в эмбриональных клетках и малоактивна в зрелых. Некоторые протоонкогены экспрессируются (транскрибируются и транслируются) не только в

Источник KingMed.info

эмбриогенезе, но и в постнатальном развитии в ходе регенерационных процессов, например после хирургических операций.

Изменения структуры и усиление сверх нормы экспрессии протоонкогенов во взрослом организме вызывает развитие опухолей (что определило их название: от греч. *protos* - первый и *onkos* - опухоль).

В эмбриональном развитии мутации таких генов являются генетической основой формирования пороков. Так, мутации одного из протоонкогенов - *FRFR3*, кодирующего рецептор к фактору роста фибробластов, приводит к нарушению пролиферации хрящевых клеток, участвующих в формировании трубчатых костей конечности, и в результате к ахон-дроплазии. Другие мутации того же гена лежат в основе летальной тана-тоформной дисплазии и менее тяжелого синдрома гипохондроплазии, которые также являются следствием нарушения (хондро)остеогенеза.

Наряду с факторами роста описан целый ряд полипептидных ингибиторов пролиферации клеток, которые ранее чаще именовали **кейло-нами**. Эти вещества существенно различаются по молекулярной массе, содержанию углеводных, липидных и других компонентов, а также по чувствительности к температуре и иным свойствам. Кейлоны считаются тканеспецифичными регуляторами пролиферации, т.е. проявляют свое ингибирующее действие в той же ткани, где и образуются. Кейлоны не имеют выраженной видовой специфичности. Так, эпидермальный кейлон трески действует и на эпидермис млекопитающего. Предполагается, что каждый тип клеток образует свой специфичный ингибитор пролиферации. Хотя для некоторых клеток известно несколько таких веществ.

Регуляция пролиферации может осуществляться и другими способами, например контактными межклеточными взаимодействиями. Многие клетки способны делиться только будучи прикрепленными к внеклеточным структурам. Например, для эпителиоцитов такой структурой является базальная мембрана, а для фибробластов - коллагеновые волокна межклеточного вещества. Если клетка устанавливает контакт не с внеклеточным матриксом, а с другими клетками, то при определенной плотности клеток наблюдается прекращение делений. Этот эффект назван «контактное торможение». Для каждой ткани «тормозящая» плотность специфична. При регенерации клетки активно делятся лишь до достижения оптимального их количества, после чего пролиферация ингибируется.

Считают, что делящимся клеткам соответствует некий генетически запрограммированный лимит делений, при приближении к которому в клетках наступают глубокие изменения, вызывающие в конечном счете прекращение делений и клеточную гибель.

Роль пролиферации как одного из основополагающих механизмов развития доказывается мутациями генов, контролирующими деление клеток. У *Drosophila melanogaster* описана мутация *gt* (*giant*). Она наследуется по рецессивному сцепленному с полом типу. У мутантов *gt* развитие протекает нормально на протяжении всего эмбрионального периода. Однако в тот момент, когда нормальные особи окукливаются и начинают метаморфоз, мутантные особи продолжают оставаться в личиночном состоянии еще дополнительно 2-5 сут. За это время у них происходит одно, а может быть, и два дополнительных деления в имагинальных дисках, от количества клеток которых зависит размер будущей взрослой особи. Затем мутанты образуют куколку вдвое крупнее обычной. После метаморфоза несколько удлиненной по времени стадии куколки на свет появляется морфологически нормальная взрослая особь (имаго) удвоенного размера.

У мышей известен ряд мутаций, обуславливающих снижение пролиферативной активности и следующие за этим фенотипические эффекты. К ним относят, например, мутацию *or* (*ocular*

Источник KingMed.info

retardation), затрагивающую сетчатку глаза начиная с 10-х суток эмбрионального развития и приводящую к микрофтальмии (уменьшению размеров глазных яблок), и мутацию *tgia*, затрагивающую центральную нервную систему с 5-6-х суток после рождения и приводящую к отставанию роста и атрофии некоторых внутренних органов.

Таким образом, деление клеток - чрезвычайно важный процесс в онтогенетическом развитии. Оно протекает с разной интенсивностью в разное время и в разных структурах организма, носит, видимо всегда, клональный характер и подвержено генетическому контролю. Все это характеризует клеточное деление как сложнейшую функцию целостного организма, подчиняющегося регулирующим влияниям на различных уровнях: генетическом, тканевом, онтогенетическом.

8.2.2. КЛЕТОЧНЫЕ ПЕРЕМЕЩЕНИЯ

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 (жгутиковое движение) 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.

Следует отметить, что перемещаться могут как отдельные клетки, так и целые клеточные пласты. Последний вариант характерен для эпителиальных клеток, которые тесно прилегают друг к другу боковыми стенками и подстилаются базальной мембраной (рис. 8.7). Отростчатые или веретеновидные клетки, погруженные в межклеточное вещество, - мезенхимные клетки - более подвижны, не образуют между собой стойких контактов, вследствие этого они мигрируют одиночно или группами (рис. 8.8). Как мезенхима, так и эпителии могут быть образованы из любого из трех зародышевых листков. Особая форма движения отдельных

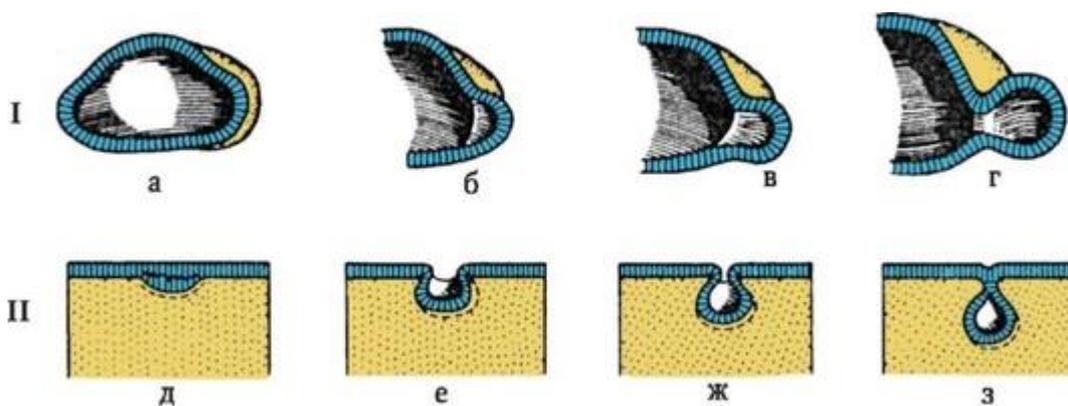


Рис. 8.7. Перемещение клеточных пластов: I - путем выпячивания на примере образования глазного пузырька; II - путем впячивания на примере образования слухового пузырька: а - стенка переднего мозга; б - местное ускорение роста; в - выпячивание; г - глазной пузырьк; д-ж - углубление ямки; з - отшнуровывание пузырька

Источник KingMed.info

клеток наблюдается на ранних стадиях развития у некоторых зародышей. Например, у птиц первичные половые клетки мигрируют из стенки желточного мешка в кровяное русло и таким образом (с током крови) переносятся в гонады.

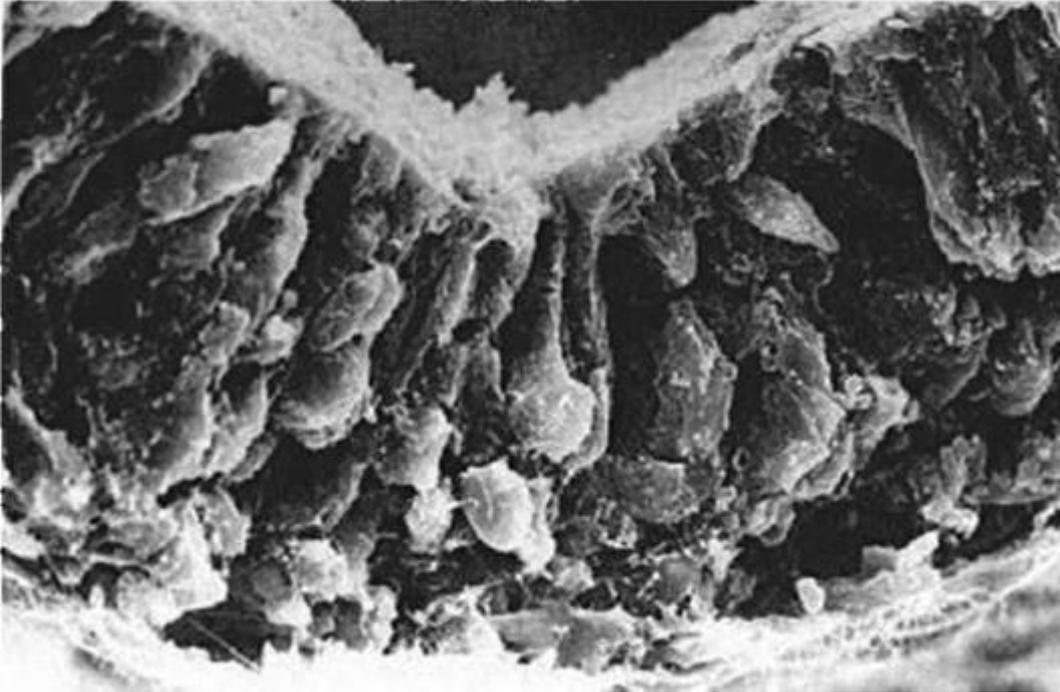


Рис. 8.8. Миграция мезенхимных клеток в ходе гастрюляции у амфибий

Миграции клеток осуществляются на основе **дистантных** и **контактных взаимодействий**. К дистантным может быть отнесено перемещение по градиенту концентрации тех или иных веществ - движение по типу хемотаксиса. Такой механизм встречается довольно редко, его достоверных случаев для эмбриональных клеток многоклеточных животных не обнаружено.

Основой миграции клеток многоклеточных животных как в эмбриогенезе, так и в постнатальном развитии являются контактные взаимодействия, прежде всего между внеклеточным веществом и мигрирующими клетками. В качестве примера подобного взаимодействия рассмотрим миграцию клеток нервного гребня (рис. 8.9), который вследствие многочисленности и значимости его производных иногда называют четвертым зародышевым листком (см. п. 7.4.3).

Начало миграции клеток нервного гребня связано с их выделением из пласта нейроэпителия замыкающейся нервной трубки и приобретением ими внешних признаков мезенхимных клеток.

Оказавшиеся вне нейроэпителиального пласта клетки нервного гребня начинают активно перемещаться. Миграция клеток определяется взаимодействием клеток с межклеточным веществом - **внеклеточным матриксом**. Матрикс служит для клеток механической опорой или, как принято говорить, твердым субстратом. Его компоненты в настоящее время довольно хорошо изучены и включают разные типы коллагена, фи-бронектин, ламинин, гликозаминогликаны и другие вещества (рис. 8.10).

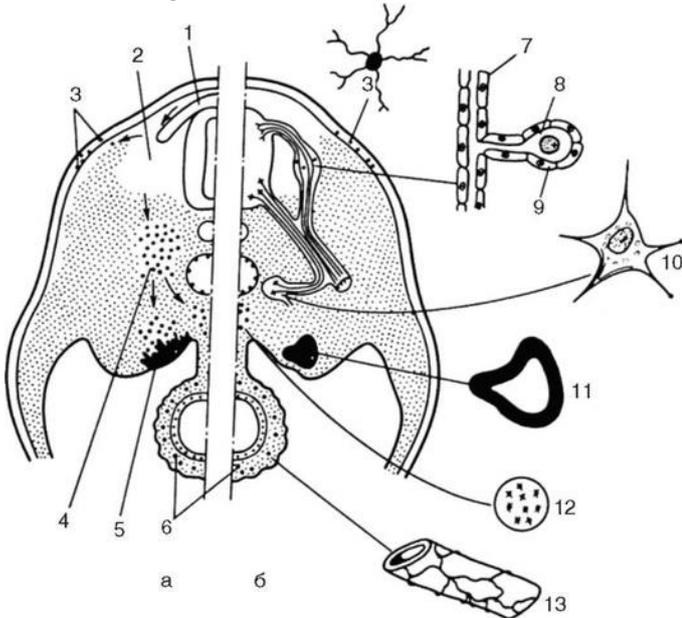


Рис. 8.9. Миграция клеток нервного гребня: а - поперечный срез зародыша; б - производные клеток нервного гребня у взрослого организма; 1 - нервный гребень; 2 - узел спинного корешка; 3 - пигментные клетки; 4 - симпатический узел; 5 - развивающийся надпочечник; 6 - нервное сплетение в стенке кишки; 7 - клетка шванновской оболочки; 8 - униполярный чувствительный нейрон; 9 - клетка-спутник; 10 - мультиполярный нейрон симпатического узла; 11 - хромаффинная клетка в мозговом веществе надпочечника; 12 - превертебральное сплетение; 13 - парасимпатическое сплетение в кишке; стрелками показано направление миграции клеток нервного гребня

Гликопротеиды фибронектин и ламинин - основные вещества внеклеточного матрикса, принимающие участие в миграции клеток нервного гребня. Они оказывают стимулирующий эффект на их перемещение. Напротив, коллаген II типа, откладывающийся, по данным ряда авторов, преимущественно на выпуклых поверхностях нейтральных пластов, задерживает на себе клетки нервного гребня, повышая их концентрацию и способствуя дифференцировке.

Взаимосвязь мигрирующих клеток с компонентами внеклеточного матрикса осуществляется особым видом клеточных рецепторов - **белками-интегринами** (рис. 8.11, а). В эксперименте показано, что введение в головной отдел зародыша антител к интегринам, блокирующих связь клеток с фибронектином или ламинином, приводит к значительным нарушениям в распределении клеток нервного гребня.

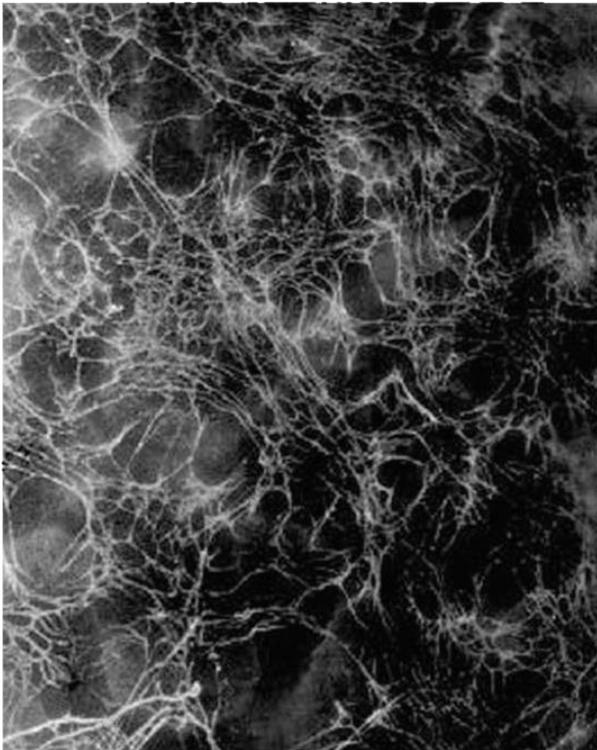


Рис. 8.10. Фибронектиновые фибриллы во внеклеточном матриксе крыши бластоцеля гастролы амфибии, выявленные методом иммунофлуоресценции

Источник KingMed.info

Интегриновый рецептор - трансмембранный белок: его молекула пронизывает плазматическую мембрану клетки и обладает как внеклеточной, так и внутриклеточной частями (доменами). Внутриклеточный домен интегрин через цепь различных соединенных между собой белков взаимодействует с актиновыми микрофиламентами цитоскелета клетки, и тем самым осуществляется структурная связь между внеклеточным матриксом и цитоскелетом прикрепившейся клетки (рис. 8.11, б). Интегрин состоит из α - и β -субъединиц, которые могут комбинироваться в различных сочетаниях, формируя более 20 разных типов интег-ринов.

Мигрирующая мезенхимная клетка в некоторых участках своей поверхности образует псевдоподии (клеточные выросты в виде тонких нитей - филоподии или пластинчатой формы - ламеллоподии). Точки прикрепления псевдоподий к внеклеточному матриксу называют фокальными контактами (рис. 8.12). Именно в них оказываются сосредоточенными интегрины. Под фокальными контактами понимают макромолекулярные динамические комплексы, включающие до 100 различных белков, посредством которых передаются регуляторные сигналы от внеклеточного матрикса к клетке. Зафиксировавшись на субстрате, клетка за счет сокращения микрофиламентов и микротрубочек цитоскелета подтягивается в точке прикрепления. Затем она теряет фокальные контакты, формирует новые псевдоподии, на которых снова устанавливаются фокальные контакты, и т.д.

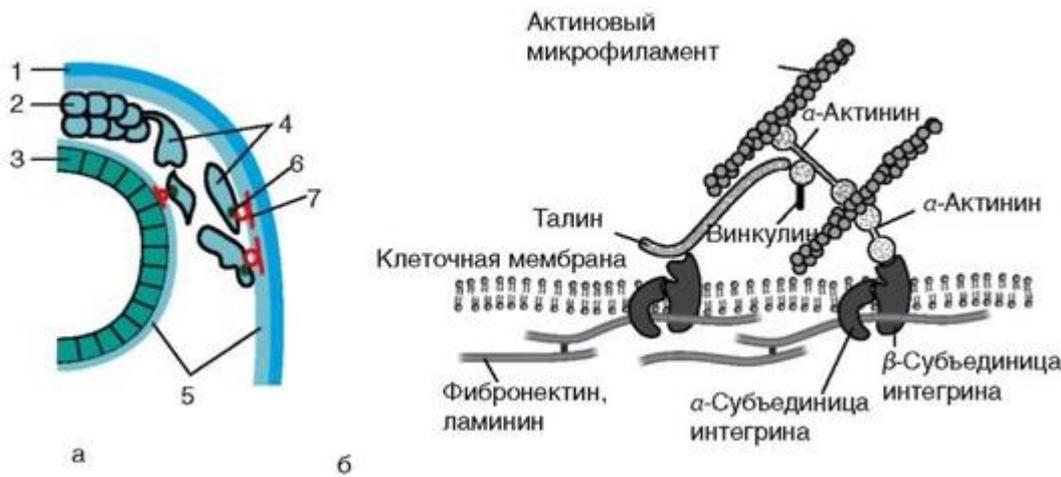


Рис. 8.11. Взаимодействие мигрирующей клетки с компонентами внеклеточного матрикса: а - общий вид; б - механизм действия интегринового рецептора. 1 - покровная эктодерма; 2 - нервный гребень; 3 - нервная трубка; 4 - мигрирующие клетки нервного гребня; 5 - внеклеточный матрикс; 6 - интегрин; 7 - ламинин

Различия в миграции эпителиальных пластов и мезенхимальных клеток, возможно, связаны именно с характером распределения фокальных контактов по клеточному краю: у мезенхимных клеток они сосредоточены преимущественно в концевых отделах, тогда как у эпителиальных клеток фокальные контакты распределены относительно равномерно по всей периферии и силы связывания с субстратом выражены слабее, чем у мезенхимы.

Наиболее интересный и принципиальный вопрос при перемещении клеток - целенаправленный характер процесса миграции, когда клетки движутся не хаотически, а по определенным путям именно в те участки зародыша, где впоследствии из них будут образовываться зрелые производные. Каким образом клетки определяют, куда они должны мигрировать?

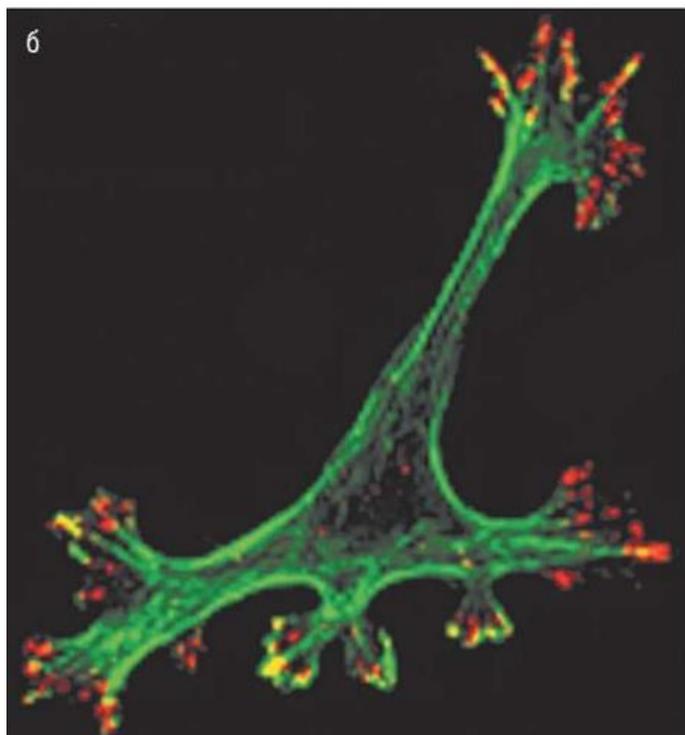
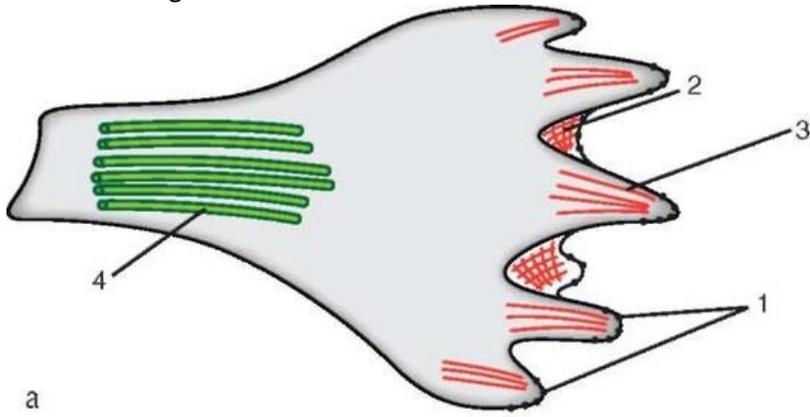


Рис. 8.12. Мигрирующая клетка: а - схематическое изображение; б - микрофотография с использованием антител к актину (зеленый) и интегринам (красный). 1 - фокальные контакты; 2 - ламеллоподия с сетью актиновых филаментов; 3 - филоподия с пучком актиновых филаментов; 4 - микротрубочки

В последние годы установлено, что направление миграции может быть задано неоднородностью компонентов матрикса и, следовательно, его адгезивных свойств, кривизной его поверхности или микрорельефом, а также различными нарушениями непрерывности матрикса. Все это служит своеобразными опознавательными знаками для выбора направления клеточных миграций и сосредоточения определенных типов клеток в участках закладки будущих органов или регенерации.

С учетом описанных выше взаимодействий рецепторов клетки с соответствующими компонентами внеклеточного матрикса становится очевидно, что если необходимые элементы матрикса распределены не

равномерно, а, например, в виде островков или узких дорожек, то клетки смогут прикрепляться и перемещаться лишь в границах определенных участков. Такая картина реально наблюдается в

Источник KingMed.info

организме в условиях эмбриогенеза или при заживлении ран, когда клетки направленно мигрируют вдоль линейных участков на поверхности внеклеточного матрикса в соответствии с наличием в этих участках белковых компонентов, необходимых для адгезии клеток данного типа (рис. 8.13).

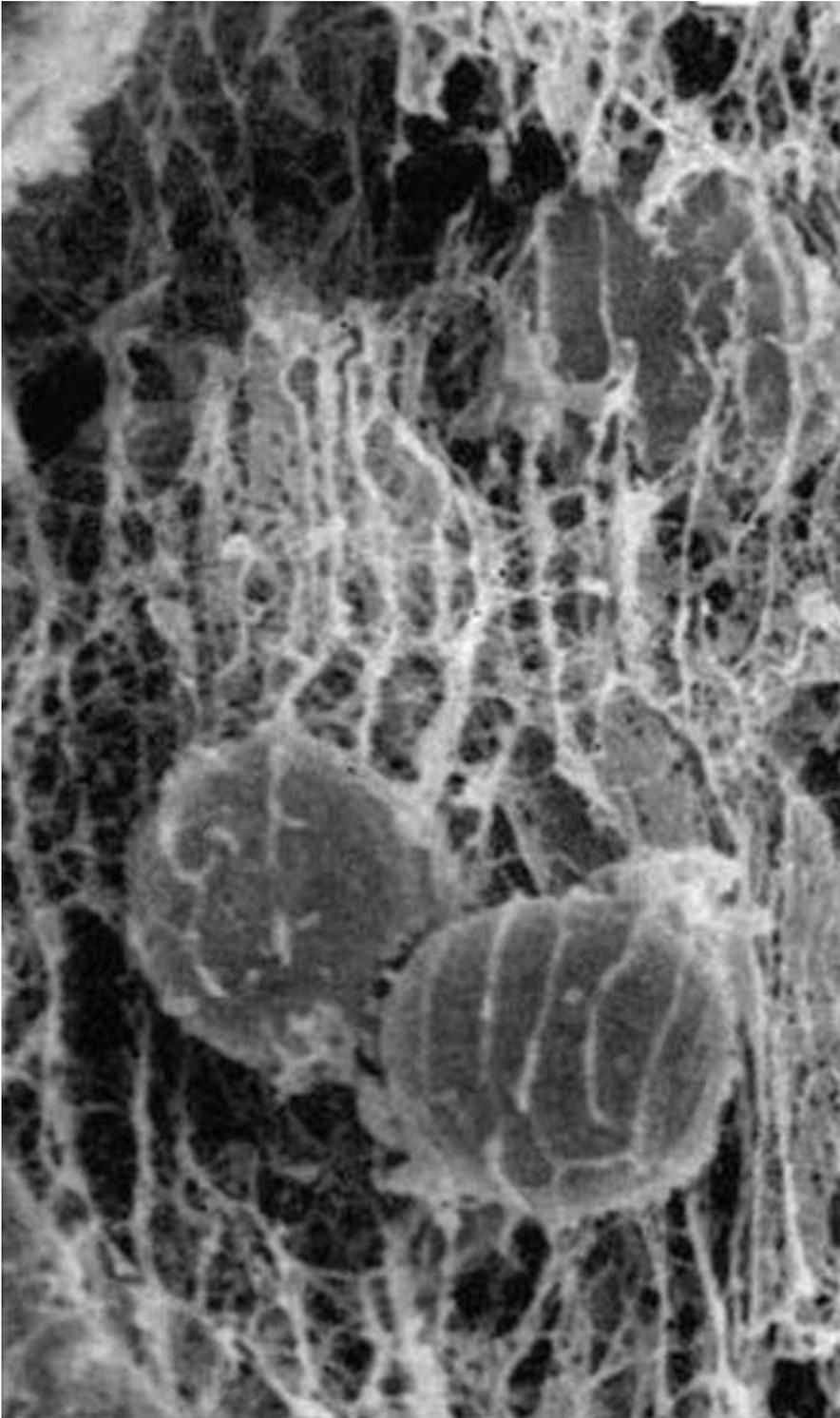


Рис. 8.13. Фибриллы внеклеточного матрикса зародыша морского ежа на стадии гастрюляции и мигрирующие вдоль них клетки

Механизм реакции мигрирующих клеток на геометрическую конфигурацию субстрата в настоящее время активно обсуждается. Одно из предположений состоит в том, что в этих реакциях участвуют так называемые рецепторы растяжения. Эти рецепторы клеточной

Источник KingMed.info

мембраны, возможно, реагируют на кривизну или микронеровности поверхности субстрата, вызывая реоргани-

зацию актинового цитоскелета и неравномерное перераспределение сил натяжения в клетке. В результате клетки начинают вытягиваться и ориентироваться в определенном направлении. Активация рецепторов растяжения включает внутриклеточную сигнализацию, которая вызывает фосфорилирование некоторых белков и изменение генной экспрессии. Одним из вероятных кандидатов на роль рецепторов растяжения являются ионные хлоридные каналы в клеточной мембране: в среде с дефицитом хлоридов вытягивание клеток вдоль микроканалов резко ослабевает. Однако для доказательства данного и ряда других предположений необходимы дальнейшие исследования.

Помимо доставки клеточного материала в нужную область зародыша миграция также обеспечивает определенный характер расположения клеток в зачатке формирующейся структуры, вследствие чего последний приобретает форму.

Так, например, в зачатке головного мозга клетки перемещаются из зоны размножения, прилежащей к полости невроцеля, к наружной стороне нервной трубки и образуют ряд выпячиваний, так называемых мозговых пузырей. Миграция клеток из зоны размножения обеспечивает также упорядоченное расположение слоев коры переднего мозга. Формирование начинается с самых глубоких слоев. Сначала мигрируют и занимают нужную позицию клетки самого нижнего (внутреннего) уровня. Клетки каждого последующего слоя, чтобы достичь своего места локализации, должны преодолеть уже сформированные клеточные уровни. Один из регуляторов процесса миграции и позиционирования нервных клеток коры переднего мозга - белок рилин, кодируемый геном *RELN*. Название «рилин» происходит от английского глагола *to reel* - кружиться, идти нетвердой походкой. Именно такая, «закрученная», неровная походка наблюдается у мышей с генетически обусловленным недостатком рилина. Нехватка белка ведет к таким нарушениям миграции нейронов, что у мышей наблюдается инверсия слоев коры головного мозга, т.е. слои выстраиваются «наоборот»: более молодые нейроны не в состоянии преодолеть слои уже «осевших» на своем уровне клеток.

Генетический контроль миграции клеток, как и других процессов, осуществляемых в онтогенезе, сложен и в настоящее время активно изучается. Имея в виду перемещения клеток нервного гребня, можно привести следующие примеры. Продукт гена *Slug* участвует в трансформации клеток нервного гребня в мигрирующие мезенхимальные клетки. Продукт гена *Foxd3* усиливает их перемещения. Миграция отдельных групп клеток нервного гребня также генетически детерминирована. Так, при одной из форм синдрома Ваарденбурга наблюдается частичный альбинизм, врожденная нейросенсорная тугоухость, а в некоторых случаях и отсутствие вегетативных ганглиев в кишечнике. Эта патология обусловлена нарушением миграции трех производных нервного гребня, одно из которых - меланоциты, второе - клетки улиткового ганглия, третье - нейроны межмышечного сплетения кишки. У больных выявлены мутации генов, кодирующих регуляторные белки *PAX3* и *MITF*, и мутация гена, кодирующего рецептор к эндотелину-3.

В целом, нарушения клеточной миграции, происходящие в период эмбриогенеза, приводят к формированию таких врожденных пороков развития, как гетеротопии и эктопии, т.е. к аномальной локализации органов или структур. Так, гетеротопия поджелудочной железы млекопитающих определяется нарушением перемещения закладок этого органа, в результате чего формирование компактной железы происходит в ненадлежащем месте.

Источник KingMed.info

Таким образом, несомненно, что миграция клеток является одним из важнейших механизмов развития, определяя правильность формирования структуры, формы органов, их локализацию, обеспечивая процессы регенерации, иммунитета и другие. Приобретение клетками способности к миграции, взаимодействие мигрирующих клеток с субстратом, детерминирующее перемещение клеток, находятся под генетическим контролем.

8.2.3. СОРТИРОВКА И СЛИПАНИЕ КЛЕТОК

Механизм **сортировки и слипания (адгезии)** клеток лежит в основе выделения и объединения клеток одного типа среди всех прочих. В процессе развития клетки «узнают» друг друга и сортируются в зависимости от свойств, т.е. образуют скопления и пласты избирательно, только с определенными клетками. Этот механизм крайне важен при формировании зародышевых листков в ходе гаструляции, образовании структур в органогенезе, осуществлении регенеративных процессов и иммунных реакций в постнатальном развитии.

Начало изучению сортировки и адгезии клеток положили эксперименты Таунса и Гольтфретера. Диссоциированные (см. разделенные) с помощью ферментов клетки зародыша амфибии на стадии гаструлы тщательно перемешивали и помещали в культуральную среду. Сначала клетки представляли собой беспорядочную смесь, затем клетки эктодермы, мезодермы и энтодермы разделялись (сегрегировали), собирались в

отдельные группы, каждая из которых занимала свою определенную область. Локализация заново образованных зародышевых листков иногда даже соответствовала их положению в зародыше - эктодерма по периферии агрегата, энтодерма внутри, а мезодерма между ними (рис. 8.14).



Рис. 8.14. Адгезия клеток зародышевых листков: а - смесь диссоциированных клеток гаструлы амфибий; б - клетки эктодермы, мезодермы и энтодермы, группирующиеся послойно путем адгезии

Было установлено, что клетки зародышевых листков имеют избирательное сродство друг к другу: внутренняя поверхность эктодермы имеет положительное сродство к мезодермальным клеткам и отрицательное к энтодермальным. Мезодерма в свою очередь обладает положительным сродством и к экто-, и к энтодерме.

Многочисленные исследования, выполненные в последние годы, показали, что избирательная сортировка и адгезия клеток обеспечивается наличием на их мембранах так называемых **молекул межклеточной адгезии (САМ, от англ. cell-adhesion molecules)**.

САМ - белки, связанные с плазматической мембраной клетки и обеспечивающие механическое взаимодействие клеток друг с другом. Часто они пронизывают мембрану и присоединяются к цитоскелету. Во многих случаях отдельная молекула способна взаимодействовать не с одним, а с несколькими веществами, для чего служат разные участки связывания. Обычно белки межклеточной адгезии расположены кластерами (группами) и образуют участки многоточечного связывания.

Источник KingMed.info

К молекулам адгезии относят 4 семейства белков: кадгерины, селек-тины, интегрины и семейство иммуноглобулинов. Опосредуемая ими адгезия может осуществляться на основе двух механизмов: **гомофильного** - молекулы адгезии одной клетки связываются с молекулами того же типа соседней клетки, и **гетерофильного**, когда две клетки имеют на своей поверхности разные типы молекул адгезии, которые связываются между собой (рис. 8.15). Особенности функционирования различных семейств представлены в табл. 8.1.

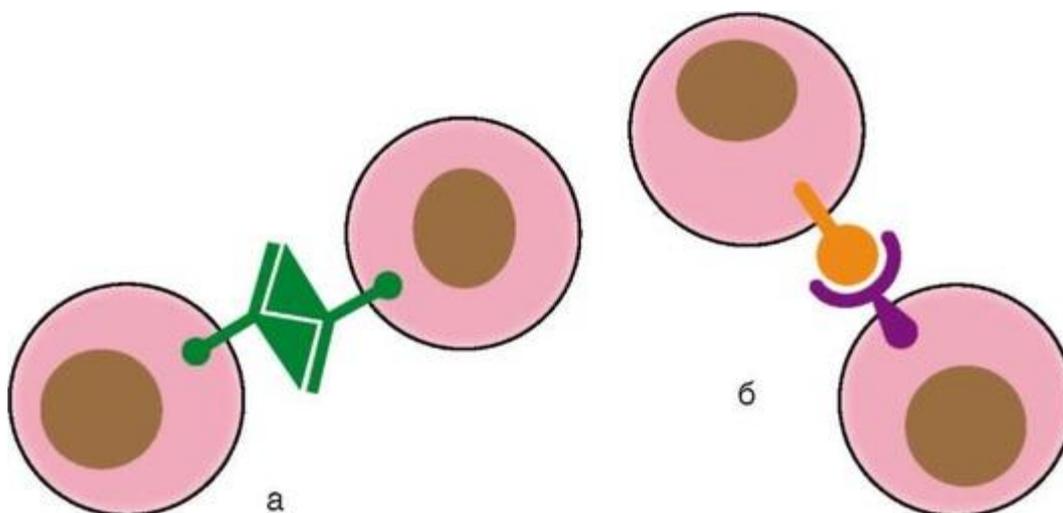


Рис. 8.15. Механизмы межклеточной адгезии: а - гомофильный механизм; б - гетерофильный механизм

Таблица 8.1. Функциональное значение молекул адгезии

Семейства молекул адгезии	Функции молекул
Кадгерины	Объединяют клетки в ткани и поддерживают целостность ткани. Для кадгеринов характерны гомофильные взаимодействия
Селектины	Осуществляют связь между клетками крови и эндотелием сосудов, а также функционируют в различных временных межклеточных адгезионных взаимодействиях в кровяном русле. Селектины имеют лектиноподобный домен, который «распознает» специфические углеводы на поверхности других клеток и связывается с ними
Интегрины	Участвуют в межклеточных взаимодействиях и во взаимодействиях с компонентами внеклеточного матрикса. Межклеточные взаимодействия обычно гетерофильные - интегрины одной клетки часто взаимодействуют с молекулами адгезии иммуноглобулинового семейства другой клетки
Имуноглобулиновое суперсемейство	Важно в эмбриогенезе, заживлении ран и иммунном ответе. Участвует в неконтактной межклеточной адгезии. Белки этой группы имеют внеклеточную часть, структура которой напоминает таковую молекул иммуноглобулинов. Все белки, принадлежащие этому суперсемейству, делятся на две группы: образующие гомофильные и гетерофильные (например, с интегринами) связи. К этому суперсемейству относятся, например, молекулы адгезии <i>N-CAM</i> , которые экспрессируют нервные клетки и их отростки

На этапах раннего эмбрионального развития основная роль в обеспечении механизма избирательной сортировки и адгезии клеток принадлежит **кадгеринам**. Остановимся на них более подробно.

Большинство кадгеринов представляют собой одиножды пересекающие плазматическую мембрану гликопротеины, состоящие из 700-750 аминокислот. Внутриклеточные домены кадгеринов связаны с цитоплазматическими белками катенинами, а те, в свою очередь, - с цитоскелетом клетки - актиновыми филаментами (рис. 8.16). Кадгерины являются Ca^{2+} -зависимыми, т.е. опосредуют клеточную адгезию только в присутствии ионов кальция. В отсутствие кальция кадгерины претерпевают значительную конформационную перестройку и в результате быстро разрушаются ферментами.

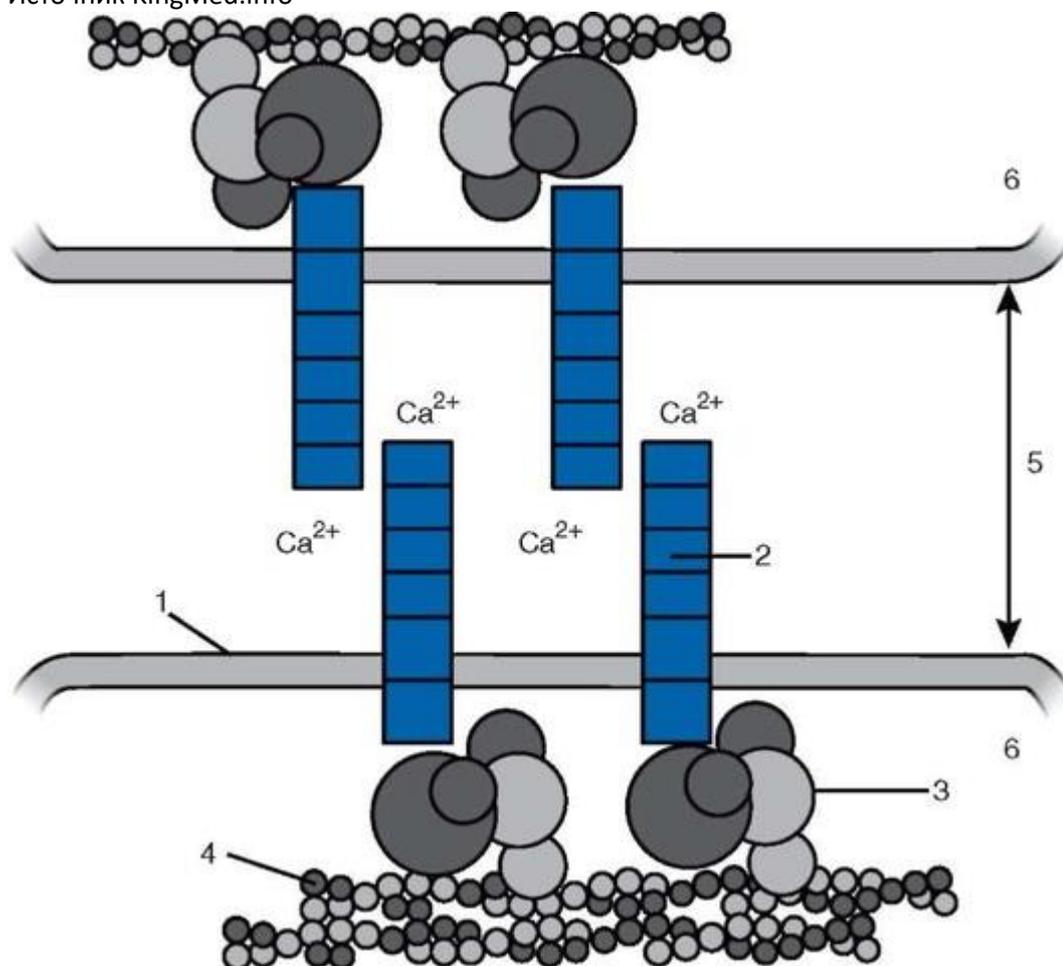


Рис. 8.16. Схема взаимодействия молекулы кадгерина с цитоскелетом: 1 - клеточная мембрана; 2 - молекула кадгерина; 3 - катенины; 4 - актиновые филаменты; 5 - межклеточное пространство; 6 - цитоплазма клетки

К настоящему моменту известно более десяти субклассов кадгеринов, каждый из которых кодируется отдельным геном. Клетки позвоночных экспрессируют один или более типов кадгеринов. Для конкретного типа клеток характерен определенный набор экспрессируемых кадгеринов. В табл. 8.2 представлены некоторые из них.

Таблица 8.2. Экспрессия кадгеринов различных субклассов в организме

Субклассы кадгеринов	Место экспрессии
Е-кадгерин (увоморулин)	Морула, эпителиальные клетки
N-кадгерин	Нейроэктодерма, мезодерма, зрелые нервная и мышечная ткани, сердце, легкое, хрусталик
P-кадгерин	Трофобласт, плацента, сердце, легкое, кишечник
R-кадгерин	Зрительный нерв, нейроглия, кость
M-кадгерин	Миобласты, сформированные мышцы
VE-кадгерин	Эндотелиальные клетки
Кадгерин-6	Почки
Кадгерин-11	Мезодерма

Роль кадгеринов в развитии можно проиллюстрировать следующими примерами.

В начале дробления бластомеры располагаются рыхло. Затем происходит компактизация клеток - бластомеры прижимаются друг к другу, плотно упаковываются и связываются межклеточными соединениями (см. рис. 8.30). Ключевая роль кадгеринов в этом процессе доказана в экспериментах. Так, антитела к Е-кадгерину блокируют компактизацию бластомеров, тогда как антитела, реагирующие со многими другими поверхностными молекулами этих клеток, не

Источник KingMed.info

оказывают такого действия. Этот же субкласс молекул адгезии наиболее важен и при формировании плотных контактов между клетками трофобласта в бластоцисте плацентарных млекопитающих. В зародыше трансгенных мышей, лишенных гена E-кадгерина, не формируется трофобласт, и зародыш не имплантируется. Помимо E-кадгерина важную роль в имплантации зародыша играет P-кадгерин. Молекулы указанных субклассов экспрессируются на поверхности клеток трофобласта и матки, обеспечивая прилипание зародыша к эпителию матки на начальном этапе этого процесса.

Очевидно, что кадгерины не менее значимы и на более поздних стадиях развития позвоночных, так как их появление и исчезновение коррелирует с важными морфогенетическими событиями, при которых ткани отграничиваются друг от друга. Так, клетки покровной эктодермы содержат E-кадгерин. По мере формирования нервной трубки и отделения ее от покровной эктодермы в клетках развивающегося нервного эпителия исчезает E-кадгерин и появляется N-кадгерин (и *n-cad*) (рис. 8.17). Присутствие различных субклассов кадгеринов на поверхности клеток покровной эктодермы и клеток формирующейся нервной трубки обеспечивает избирательную адгезию этих клеточных типов при смыкании нервных валиков. Интересно, что при миграции клеток нервного гребня из нервной трубки они теряют *n*-кадгерин (и *n-cad*), но вновь начинают вырабатывать его позднее, когда, объединяясь, формируют нервный узел. Экспрессия *cam* этих же двух семейств на поверхности мигрирующих мезенхимальных клеток, происходящих из склеротома, приводит к их объединению и последующему образованию кости. Механизм избирательной сортировки и адгезии лежит в основе и многих других процессов органогенеза, в частности, формирования мышечных волокон при слиянии клеток-миобластов, установление контактов между аксонами клеток сетчатки и нейронами других отделов зрительного анализатора и т.д.

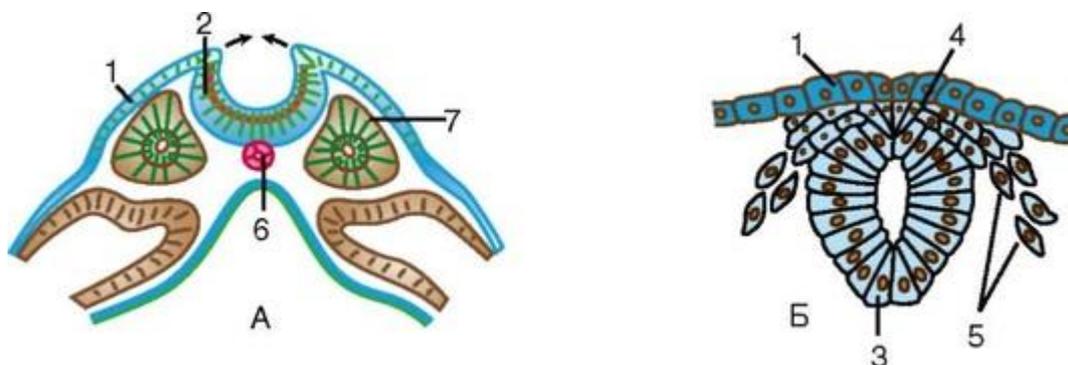


Рис. 8.17. Экспрессия кадгеринов: А - при формировании нервной трубки; Б - при выселении мезенхимальных мигрирующих клеток нервного гребня; 1 - эктодерма (E-кадгерин); 2 - нервный желобок (N-кадгерин и *N-CAM*); 3 - нервная трубка (N-кадгерин и *N-CAM*); 4 - нервный гребень; 5 - мигрирующие клетки нервного гребня; 6 - хорда; 7 - сомит

Установлено, что число экспрессируемых на поверхности клеток кадгеринов также имеет значение при их избирательной сортировке и адгезии. В эксперименте были использованы две идентичные клеточные линии, отличающиеся по количеству синтезируемого P-кадгерина. При смешивании клеток этих двух линий те из них, которые имели большее число молекул адгезии, демонстрировали более выраженное сцепление друг с другом и формировали плотную группу. Она окружалась клетками с меньшим числом молекул адгезии и, следовательно, образующими менее прочные контакты.

В процессе развития избирательное сродство клеток меняется. Этот факт подтверждается экспериментами по реагрегации диссоциированных клеток мезодермы куриных зародышей.

Источник KingMed.info

Разделенные клетки головной части мезодермы, где уже были сформированы сомиты зародыша, после диссоциации легко reagрегировали в скопления, по размерам равные сомитам. Диссоциированные клетки из задних отделов, где еще не образовались сомиты, не reagрегировали с той же легкостью.

Нарушение действия механизма избирательной клеточной сортировки и адгезии в ходе органогенеза приводит к формированию таких пороков развития, как несращение нервной трубки (*spina bifida*), несмыкание верхнечелюстных костей и их небных отростков (расщелина твердого неба). Мутация гена *SOX-9* у человека проявляется в нарушении конденсации и адгезии клеток-предшественников при формировании хрящевых закладок костей и приводит к развитию кампомелической дисплазии. Это заболевание выражается в дефектах образования большинства костей тела и заканчивается смертью детей в период новорожденности от дыхательной недостаточности, вызванной аномалиями хрящей ребер и трахеи.

В постнатальном онтогенезе при нарушении синтеза молекул адгезии может наблюдаться торможение контактного ингибирования пролиферации клеток (см. п. 8.2.1), приводящее к образованию опухолей. Утрата их клетками молекул адгезии сопровождается стойкой дестабилизацией межклеточных контактов и последующим метастазированием. В частности, нарушение синтеза E-кадгерина, вызванное мутациями кодирующих его генов, приводит к развитию диффузного рака желудка с ранним метастазированием и плохим прогнозом.

Таким образом, сортировка клеток и их избирательная адгезия наряду с другими клеточными процессами играют важную роль на протяжении всего онтогенеза, начиная с самых ранних его этапов, обеспечивая нормальное развитие и функционирование организма. Как и все прочие механизмы развития, клеточная сортировка и адгезия подвержены генетическому контролю.

8.2.4. ГИБЕЛЬ КЛЕТОК

Наряду с описанными выше делением, сортировкой и миграцией клеток, важную роль в индивидуальном развитии организмов играет **процесс программированной гибели клеток**, или **апоптоза**. В эмбриогенезе он является одним из основных механизмов органогенеза и метаморфоза, способствует достижению характерных для определенного биологического вида черт его морфофункциональной организации. В постнатальном развитии апоптоз обеспечивает гибель клеток на терминальных стадиях дифференцировки (например, эритроцитов), стареющих и поврежденных клеток, уничтожение аутореактивных, т.е. действующих против собственных клеток, клонов лимфоцитов и т.д. Помимо этого на протяжении всего развития механизм программированной клеточной гибели обеспечивает регуляцию численности клеток, а именно - установление нужного равновесия между процессами пролиферации и гибели клеток, что в одних ситуациях обеспечивает стабильное состояние организма, в других - рост, в-третьих - атрофию тканей и органов.

В настоящее время различают два принципиально различных типа клеточной гибели: **апоптоз** (в переводе с греческого «отпадающий») и **некроз** (см. п. 3.1.2).

Некроз представляет собой патологическую форму смерти клеток в результате их острого повреждения. Он характеризуется разрывом цитоплазматической и внутриклеточных мембран, что приводит к разрушению органелл, высвобождению лизосомальных ферментов и выходу содержимого цитоплазмы в межклеточное пространство, при этом часто развивается воспалительный процесс, захватывающий территорию от части клетки до целого органа (см. рис. 3.5).

Источник KingMed.info

В отличие от некроза, апоптоз - генетически контролируемая клеточная гибель, которая приводит к «аккуратной» разборке и удалению клеток. Он широко распространен и типичен для физиологических условий. В процессе апоптоза наблюдаются следующие морфологические изменения (см. рис. 3.5). Клетка уменьшается в размерах, цитоплазма уплотняется, органеллы располагаются более компактно. Происходит конденсация хроматина под мембраной ядра, при этом образуются четко очерченные плотные массы различной формы и размеров. Ядро может разрываться на два или несколько фрагментов. Затем в апоптотической клетке формируются глубокие впячивания мембраны, что приводит к фрагментации клетки и формированию окруженных мембраной апоптотических телец, состоящих из цитоплазмы и плотно расположенных органелл, с фрагментами ядра или без них. После чего очень быстро происходит их фагоцитоз, который осуществляется как макрофагами, так и окружающими здоровыми клетками. Очень важно, что при апоптозе не развивается воспалительный процесс и гибель отдельных клеток или их групп происходит избирательно, без повреждения окружающих здоровых клеток.

Выделяют два вида программированной клеточной гибели: **апоптоз «изнутри»** и **апоптоз «по команде»**.

В первом случае задача процесса - убрать поврежденные клетки. Апоптоз запускается сигналами, возникающими внутри самой клетки при неудовлетворительном ее состоянии - повреждении хромосом, внутриклеточных мембран и т.д.

Второй вариант апоптоза наблюдается во вполне нормальных и жизнеспособных клетках, которые с позиции целого организма оказываются ненужными или вредными. В этом случае клетка получает из внеклеточной среды, например от окружающих клеток, сигнал «погибнуть», который передается через мембранные или, реже, цитоплазматические рецепторы. Иногда сигналом для начала апоптоза может быть и отсутствие необходимого сигнала. В результате контакта сигнальных молекул с наружной частью белка-рецептора последний претерпевает структурные изменения, что тем или иным способом приводит к запуску реакций клеточной гибели.

Механизмы апоптоза многообразны. Они представляют собой сложнейшие молекулярные каскады, изучением которых занимаются многие лаборатории по всему миру. Остановимся на роли некоторых основных участников этих каскадов.

Реализуемые в организме схемы осуществления апоптоза различаются в основном своими начальными стадиями (рис. 8.18). Большинство из них осуществляется с участием белка *p53* и лишь небольшая часть, например запускаемая с рецепторов ФНО, реализуется без его участия (см. п. 3.1.2).

Какими бы сигналами ни запускалась программируемая клеточная гибель - разнообразными внешними или внутренними, - если в схеме принимает участие белок *p53*, то происходит его накопление и увеличение активности.

Белок *p53* в норме присутствует во всех типах клеток. Он локализуется в ядре, где функционирует как транскрипционный фактор. В его молекуле у человека - 392 аминокислотных остатка, образующих шесть различных по размеру и функции доменов (блоков).

Центральный и самый большой домен (включающий около 200 остатков) отвечает за узнавание энхансеров генов-мишеней и связывание с ними. В результате изменяется активность нескольких групп

генов и среди них - генов, продукты которых принимают участие в реализации апоптоза. К последним относятся гены, кодирующие белки, стабилизирующие мембраны митохондрий (*BCL2*, *BCLX* и др.) и наоборот, повышающие их проницаемость (например, *BAX*, *BAD*, *BAK*). Изменение соотношения этих белков в цитоплазме клетки вызывает повышение проницаемости мембран митохондрий, вследствие чего ее покидают белки, активирующие каспазный каскад через каспазу 9 (Aif, Цит С). Включение апоптозного пути через рецепторы без вовлечения белка *p53* активирует этот же каскад, но через каспазу 8.

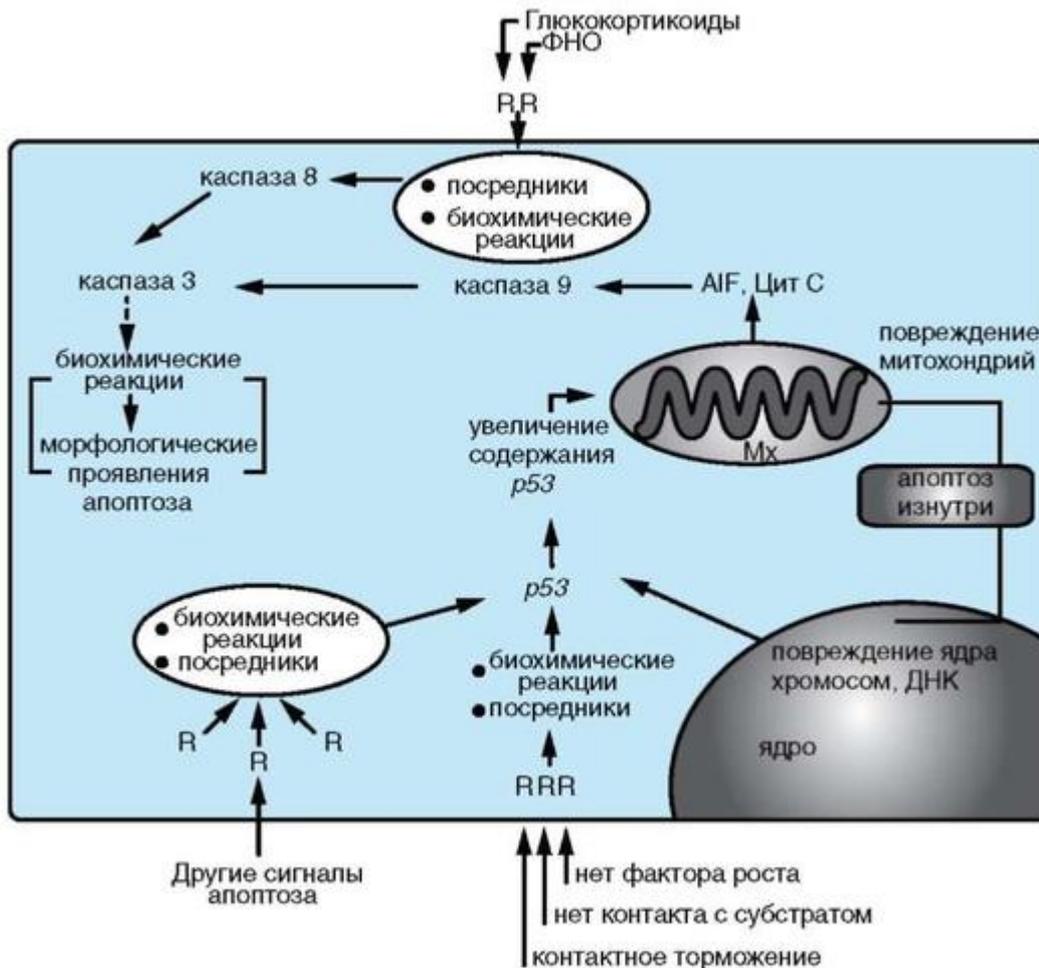


Рис. 8.18. Обобщающая схема некоторых механизмов апоптоза: *R* - рецептор; ФНО - фактор некроза опухолей

Каспазы - семейство белков, являющихся непосредственными участниками внутриклеточных реакций, обеспечивающих апоптоз. Каспазы представляют собой ферменты - сериновые или цистеиновые цитоплазматические протеазы, в зависимости от наличия в их активном центре соответствующей аминокислоты. В своих белках-мишенях каспазы разрывают те пептидные связи, которые образованы с участием остатка аспарагиновой кислоты. Считают, что эти ферменты находятся в цитоплазме практически всех клеток, и до инициации реакций клеточной гибели они присутствуют в виде неактивных предшественников - прокаспаз. Последние активируются путем ряда модификаций. Известно 14 каспаз, которые подразделяются на инициаторы, эффекторы и стимуляторы. Каспазы способны в определенной последовательности активировать друг друга, образуя своего рода каскад, причем разветвленный. Инициаторы (каспазы 8 и 9) расщепляют и активируют каспазы-эффекторы. Одна из них - узловое звено каспазного каскада - каспаза 3. Ее мишени - как другие участники этого каскада, так и, возможно, некаспазные белки. Функция завершающих членов каскада - ограниченный протеолиз

Источник KingMed.info

(разрушение) некоторых цитоплазматических и ядерных белков, что и приводит к развитию морфологических проявлений апоптоза.

В эмбриональном периоде развития основным видом программированной клеточной гибели является апоптоз «по команде».

Особое значение этот клеточный механизм имеет для многих формообразовательных процессов. Так, разделение пальцев на руках или ногах зародыша, разделение локтевой и лучевой костей предплечья, формирование суставов основано на гибели клеток, которая осуществляется избирательно, в определенных участках зачатков конечностей (рис. 8.19). Образование полостей сосудов (кавитация), которые первоначально представляют собой тяжи клеток, разделение верхнего и нижнего век и многие другие процессы развития имеют в своей основе механизм избирательной клеточной гибели.

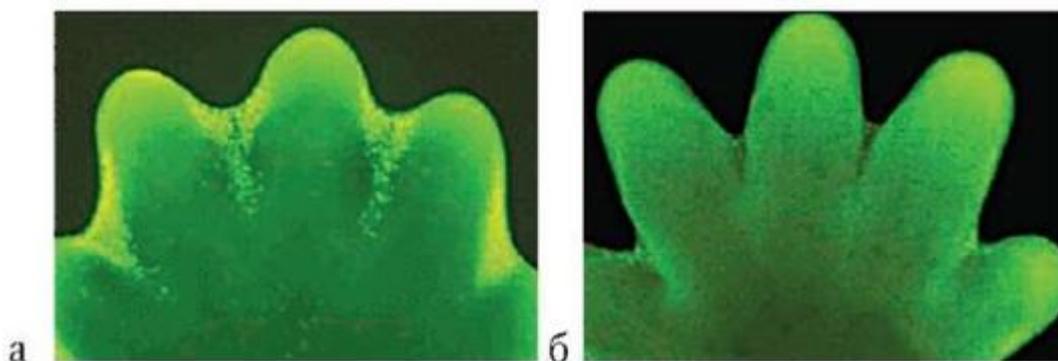


Рис. 8.19. Апоптоз во время нормального развития конечности мыши: а - клетки, подвергающиеся апоптозу, мечены желтым; б - та же конечность через 1 сут

Апоптоз обеспечивает также и исчезновения органов. Таким образом происходит резорбция личиночных органов животных при метаморфозе, например жаберных лепестков, хвоста и кишечника у головастиков.

Подобные примеры имеют место и в эмбриональном развитии человека. Как и у других млекопитающих, у человека закладываются 9-10 хвостовых позвонков, волосяной покров, шесть или семь зачатков пальцев. Наблюдаемая в последующем развитии гибель клеток в этих закладках приводит к тому, что в копчике остается 4-5 позвонков, редуцируется большинство волосяных зачатков, а конечности становятся пятипалыми. В ходе развития мочеполовой системы погибают клетки предпочки и туловищной почки, в центральной нервной системе происходит гибель части нейронов, что в большинстве случаев обусловлено отсутствием контакта с клетками-мишенями.

Нарушение механизма программированной клеточной гибели приводит к формированию аномалий развития, таких как синдактилия (сращение пальцев), гипертрихоз (повышенное оволосение), полидактилия (многопалость) (рис. 8.20).

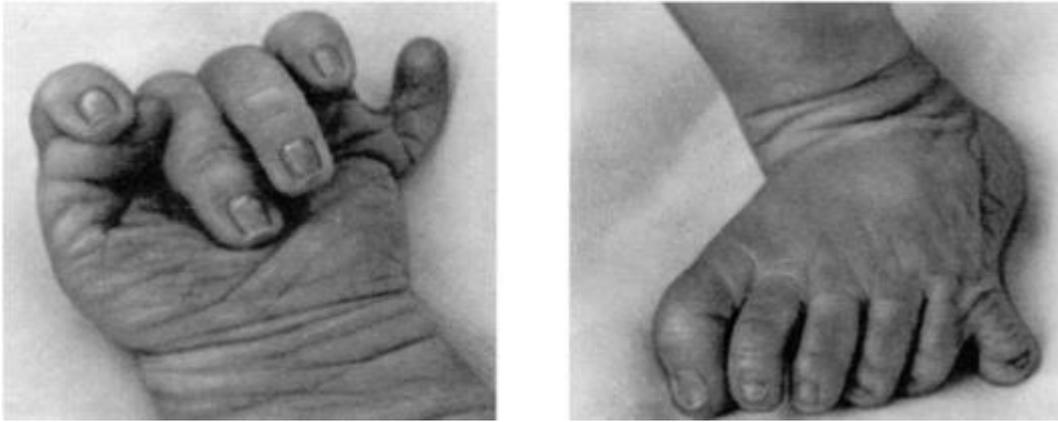


Рис. 8.20. Полидактилия кисти и стопы

Как уже было сказано, процесс апоптоза требует скоординированной регуляции экспрессии многих генов. Нарушения синтеза белковых продуктов любого из них влекут за собой сбои в развитии и функционировании различных клеточных популяций. Так, к настоящему времени установлено, что активность гена белка *bcl-2* требуется для поддержания жизнеспособности лимфоцитов, меланоцитов, эпителия кишечника и клеток почек во время развития эмбриона. Продукт гена *Bcl-x* необходим для ингибирования смерти клеток в эмбриогенезе, особенно в нервной системе. Экспрессия гена *Bax* требуется для апоптоза тимоцитов и поддержания жизнеспособности мужских половых клеток в ходе гаметогенеза. Как в раннем, так и в постнатальном развитии механизм клеточной гибели используется организмом для предотвращения несанкционированной пролиферации поврежденных или патологически измененных клеток. Мутации гена *p53* обнаруживаются примерно в половине опухолей, независимо от их происхождения или типа. Мыши, у которых отсутствовали оба этих гена, проявляли чрезвычайно высокую склонность к развитию злокачественных образований в результате полного или частичного нарушения апоптоза предопухолевых клеток.

Таким образом, программированная клеточная гибель является естественным, эволюционно обусловленным и генетически контролируемым механизмом развития, активно реализуемым организмом на различных стадиях онтогенеза для решения широкого спектра задач.

8.2.5. ДИФФЕРЕНЦИРОВКА КЛЕТОК

Еще один клеточный механизм развития - **дифференцировка** клеток (см. раздел 3.1.3). Именно благодаря ей однородный клеточный материал зародыша становится разнородным, образует ткани, входит в состав различных органов и систем, т.е. дифференцировка клеток является основой процесса дифференциации частей и структур зародыша.

Так, в эмбриогенезе человека из одной соматической клетки - зиготы - формируется особь, имеющая нервную, мышечную, соединительную и эпителиальную ткани, в состав которых входит более (не менее) 220 клеточных типов (например, клетки соединительной ткани - остеоциты, хондроциты, фибробласты, лейкоциты, эритроциты и т.д.). Клетки и ткани образуют опорно-двигательную, сердечно-сосудистую, мочеполовую, иммунную и другие системы органов. Напомним, что истинная многоклеточность - это многотканевый организм.

Клеточной дифференцировкой (цитодифференцировкой) называется процесс приобретения клетками биохимических, морфологических и функциональных различий. Другими словами, это процесс, в результате которого клетка становится специализированной, имеющей характерное строение, определенный тип метаболизма, и способной к выполнению определенных функций.

Источник KingMed.info

Как правило, дифференцируются не отдельные клетки, а группы сходных клеток, которые претерпевают постепенные изменения на протяжении нескольких клеточных циклов.

Дифференцировка клеток, гистогенез и морфогенез совершаются в совокупности, причем в определенных участках зародыша и в определенное время. Это очень важно, потому что указывает на координированность и интегрированность эмбрионального развития. Первые биохимические и морфогенетические различия между клетками у большинства позвоночных обнаруживаются в период гаструляции.

Для недифференцированного состояния клетки характерны относительно крупное ядро и высокое ядерно-цитоплазматическое отношение, диспергированный хроматин (преобладает эухроматин) и хорошо выраженное ядрышко, многочисленные рибосомы и интенсивный синтез РНК, высокая митотическая активность и неспецифический метаболизм (активны гены «домашнего хозяйства»). Все эти признаки изменяются в процессе дифференцировки, характеризуя приобретение клеткой специализации.

8.2.5.1. Роль генетического материала в дифференцировке клеток

На чем же основана клеточная дифференцировка? Развитие представлений о механизмах цитодифференцировки представлено на рис. 3.6.

В конце XIX в. А. Вейсман предложил механическую модель цитодифференцировки. Он предполагал, что при делении клеток зародыша распределение генетического материала не происходит равномерно. Только линия половых клеток получает при делении и передает потомкам полный набор хромосом. Линии же соматических клеток наследуют лишь часть генетического материала, причем все они отличаются друг от друга по количеству и содержанию полученного материала. Предположение Вейсмана нашло ряд подтверждений. Так, в ходе делений дробления у аскариды наблюдается элиминация, т.е. утрата, части хромосом. Это явление получило название **диминуция хроматина**. Полный набор неповрежденных (интактных) хромосом сохраняется только в том бластомере, который в дальнейшем дает начало первичным половым клеткам. Элиминация целых хромосом была обнаружена у некоторых насекомых, низших ракообразных и даже одного из представителей сумчатых млекопитающих. У последних все соматические клетки содержали лишь одну половую хромосому X, а предшественники половых клеток - две хромосомы: XX или XY в зависимости от пола животного.

В дальнейшем выяснилось, что в ходе цитодифференцировки количество генетического материала может не только уменьшаться, но и увеличиваться. У некоторых насекомых, моллюсков, круглых червей в клетках слюнных желез, эпителии желудка и задней кишки, мальпигиевых сосудах и ряде других тканей обнаружены **политенные хромосомы**. Такие хромосомы, содержащие до тысячи и даже более копий одной и той же молекулы ДНК, образуются в результате многократной ее репликации, не сопровождающейся последующим разделением этих молекул. Явление **амплификации** - многократного избирательного копирования отдельных генов, наблюдаемое, в частности, в овогенезе амфибий, также приводит к увеличению количества генетического материала в определенных клетках особи (см. п. 2.4.3.4). Однако все приведенные примеры являются скорее исключением, нежели правилом.

Как установлено к настоящему времени, сбалансированность генотипа по дозам генов - одно из основополагающих условий нормального развития особи. Действительно, формирование новых организмов в подавляющем большинстве случаев происходит из одной или нескольких диплоидных соматических клеток, которые делятся митозом. Этот механизм деления обеспечивает равномерное распределение генетического материала в дочерних клетках и генетическую идентичность материнской и дочерних клеток. Следовательно, все соматические

клетки, образующиеся в ходе развития, среди которых и первичные половые клетки, имеют полный набор генетического материала. (Редкие случаи соматических мутаций учитывать не будем.) Наиболее прямые доказательства эквивалентности геномов соматических клеток получены методами молекулярной гибридизации нуклеиновых кислот (см. п. 5.2.2.3). Уже более 20 лет тому назад их применение показало, что ДНК всех типов клеток большинства позвоночных животных имеют одинаковое количество и одинаковые типы последовательностей нуклеотидов.

Функциональная полноценность генетического материала соматических клеток была доказана в экспериментах Дж. Гердона. Суть опытов заключалась в следующем (см. рис. 3.2). Ядро яйцеклетки шпорцевой лягушки, которое содержало два ядрышка, подвергали ультрафиолетовому облучению, чем вызывали его инактивацию. Вместо него в цитоплазму яйцеклетки помещали ядро с одним ядрышком, взятое из дифференцированных клеток кожи взрослой особи или кишечника головастика. В определенном проценте случаев из такой яйцеклетки развивался нормальный организм, все клетки которого имели ядро с одним ядрышком. Полученный результат доказывает, что ядро дифференцированной клетки содержит всю информацию, необходимую для полноценного развития особи.

О функциональной полноценности генетического материала зрелой соматической клетки свидетельствуют и выполненные к настоящему времени многочисленные эксперименты по клонированию растений, животных, в том числе и млекопитающих. Клонирование, в основе которого лежит трансплантация ядер дифференцированных соматических клеток в энуклеированные (лишенные ядра) ооциты, представило неопровержимые доказательства того, что геном эукариотических клеток не претерпевает необратимых изменений в ходе их дифференцировки и может быть репрограммирован, т.е. возвращен на уровень функциональной активности, наблюдаемый у зиготы. Более того, показано, что ядра высокодифференцированных клеток, таких как В- или Т-лимфоциты, способны обеспечить полноценное развитие особи в сходных экспериментах, несмотря на то что некоторые их гены (иммуноглобулинов и Т-рецепторов) претерпевают перестройку в ходе дифференцировки. И хотя остается неясным, способны ли сохранять возможность реализации информации гены любых типов дифференцированных клеток, список обладающих такой способностью клеток достаточно велик и включает у млекопитающих в том числе фибробласты эмбрионов и взрослых животных, эпителиальные клетки молочной железы и яйцевода, В- и Т-лимфоциты, незрелые клетки Сертоли и пролиферирующие нейральные клетки коры головного мозга эмбрионов. Следовательно, причина дифференцировки - не изменение количества или функциональной полноценности генетического материала в клетках, а какие-то иные механизмы.

В настоящее время считают, что возникающая в процессе развития специализация клеток - результат **дифференциальной (или избирательной) экспрессии генов**. Эта точка зрения ведет начало от Т. Моргана, который, опираясь на хромосомную теорию наследственности, предположил, что дифференцировка клеток в процессе онтогенеза является результатом последовательных реципрокных (взаимных) влияний цитоплазмы и меняющихся продуктов активности генов. Различные типы клеток используют разные гены из одинакового набора, присутствующего в каждой клетке. Это означает, что в конкретных клетках активны не все гены, а только часть из них, причем экспрессия тех или иных генов происходит избирательно в зависимости от типа клеток, этапа онтогенеза и других факторов. Результатом такой избирательной экспрессии становится образование в разных типах клеток различных наборов белков, которые обеспечивают протекание в клетках определенных биохимических реакций, специфичность их строения и функции. Так, нервные клетки способны возбуждаться и

Источник KingMed.info

передавать это возбуждение на другие клетки, эритроциты - транспортировать кислород к тканям, мышечные клетки - сокращаться и тем самым обеспечивать различные проявления движения, фоторецепторы - воспринимать световой поток. Выполнение этими клетками специфических функций определяется их строением, а именно: наличием отростков у нейронов, по которым передается возбуждение; двояковогнутой формой эритроцитов, позволяющей им проникать в узкие капилляры и осуществлять газообмен; значительной протяженностью мышечных волокон, образованных при слиянии нескольких клеток-предшественников, что делает их способными эффективно изменять свою длину; формированием складок мембраны, где располагается фотопигмент, у палочек и колбочек. Указанные морфофункциональные различия обеспечиваются разнообразием белков: нейроны продуцируют нейропептиды, эритроциты - гемоглобин, мышечные клетки - актин и миозин, клетки сетчатки - опсины. В некоторых случаях дифференцировка оказывается связанной с синтезом не белков, а других веществ, например сахаров и их производных. Так, межклеточное вещество хрящевой ткани состоит из мукополисахаридов - производных углеводов. Однако их синтез в клетках-хондробластах невозможен без некоторых специфических ферментов, а последние - это белки. Поэтому утверждение, что в основе подавляющего большинства клеточных дифференцировок лежит синтез специфических белков, абсолютно справедливо. Следует подчеркнуть, что этот принцип дифференцировки является общим в онтогенезе как животных, так и растений, несмотря на то что между ними существуют огромная эволюционная дистанция и существенные различия в характере развития.

Гипотезу избирательной активности генов подтверждают данные, полученные в генетических и эмбриологических исследованиях. Один из объектов, позволяющих визуально, с помощью светового или электронного микроскопа изучать активность отдельных генов, - политенные хромосомы. В них хорошо видны темноокрашенные области плотной упаковки ДНК, которые получили название дисков. Между ними расположены светлые участки генетического материала менее плотной упаковки. Многие отдельные диски соответствуют отдельным генам. Активная транскрипция определенных генов в таких хромосомах сопровождается образованием вздутий или пухов на месте дисков (рис. 8.21). Сравнение различных типов дифференцированных клеток по набору только что транскрибированных молекул пре-мРНК, выполненное методом молекулярной гибридизации молекул РНК с комплементарными им ДНК, также выявило различия в зависимости от типа клеток. Было показано, что клетки разных типов, синтезирующие отличающиеся мРНК и белки, демонстрируют в одних и тех же хромосомах различную локализацию пухов. Кроме того, расположение пухов меняется в ходе онтогенетического развития, что коррелирует с синтезом определенных белков в конкретный промежуток времени (рис. 8.21).



Рис. 8.21. Последовательное изменение активности трех пухов с особой морфологией - колец Бальбиани (KB1-KB3) у *Chironomus tentans*: 1 - диск; 2 - междисковый промежуток; 3 - пух

Источник KingMed.info

По мере развития число функционирующих генов в клетке, по-видимому, прогрессивно снижается. Так, из 40 тыс. генов одного из видов морского ежа на стадии бластулы активны примерно 30 тыс., гастролы и личинки - 12-15, у взрослых животных - 5-7 тыс. генов. У человека, по некоторым оценкам, в раннем эмбриогенезе активны до 60% генов, а в дифференцированных клетках взрослого организма - от 1 до 7-10% (по отдельным данным, до 44% в нервных клетках). Установлено, что часть генов при усилении специализации блокируется в клетках необратимо. Подтверждением тому могут служить уже упоминавшиеся опыты Гердона по пересадке ядра дифференцированной клетки в яйцеклетку с инактивированным собственным ядром. Количество успешных развитий особей прямо зависело от возраста донора (рис. 8.22). С этой точки зрения дифференцировка может быть определена как экспрессия той части генома, которая остается в распоряжении клетки. Вместе с тем эти опыты обнаружили и другие важнейшие закономерности. Так, они еще раз подтвердили предположение Т. Моргана о решающем значении взаимодействия цитоплазмы и ядра в жизнедеятельности клеток и развитии организма.

Как было сказано ранее (см. п. 2.4.4.4-е), структурные гены генотипа подразделяются на две группы: гены «домашнего хозяйства», кодирующие белки, обеспечивающие реализацию фундаментальных процессов жизнедеятельности в клетке, и гены дифференцировки, называемые также гены «роскоши». Последние отвечают за синтез специфических белков. На самых ранних этапах эмбрионального развития, а именно в ходе дробления, когда начинает работать собственный геном зародыша, первоначально экспрессируются только гены «домашнего хозяйства». Синтез белков, кодируемых генами «роскоши», в клетках большинства

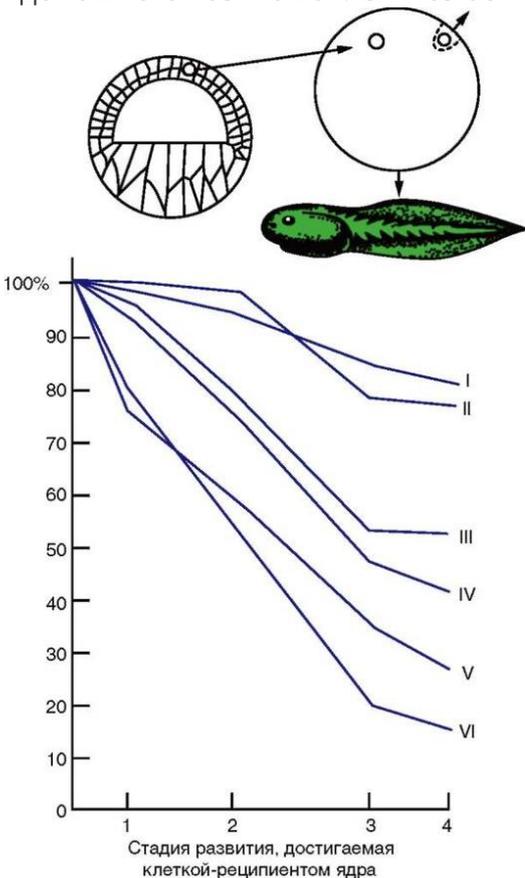


Рис. 8.22. Зависимость успеха пересадки ядер из дифференцированной клетки в яйцеклетку от возраста донора (I-VI) ядра: I - бластула; II - гастула; III - нейрула; IV - появление мышечной реакции; V - начало сердечной деятельности и вылупления; VI - активное плавание; 1 - ранняя гастула; 2 - нейрула; 3 - плавающий головастик; 4 - питающийся головастик; вверху изображена схема опыта

хордовых осуществляется, начиная со стадии бластулы. В этой группе представлены гены, кодирующие тканеспецифические белки, характерные для всех типов клеток данной ткани (например, нервной), и гены, кодирующие типоспецифические белки, определяемые только в конкретных специализированных клетках (например, в колбочках). Первоначально на этапах дифференцировки включаются гены, отвечающие за синтез тканеспецифических белков, а затем - типоспецифических. Проследить это возможно на примере синтеза белков мембраны. Клетки разных типов характеризуются различными белковыми компонентами клеточной поверхности, которые к тому же изменяются по мере развития клеток. Эти специфические мембранные белки часто выявляют с помощью антисывороток, поэтому их называют антигенами дифференцировки. На рис. 8.23 показаны временные изменения клеточной мембраны одной эпителиальной клетки дрозофилы по мере того, как она превращается в фоторецептор сетчатки. Как только эпителиальная клетка приобретает свойства нейрона, она экспрессирует антиген *22c10*, который обнаруживается и на других нервных клетках. Вскоре клетка начинает синтезировать другую молекулу клеточной мембраны - антиген *24b10*, что характерно только для нейронов, дающих начало фоторецепторам. На более поздних стадиях в некоторых областях созревающего фоторецептора появляется антиген *21a6*, а затем другой,

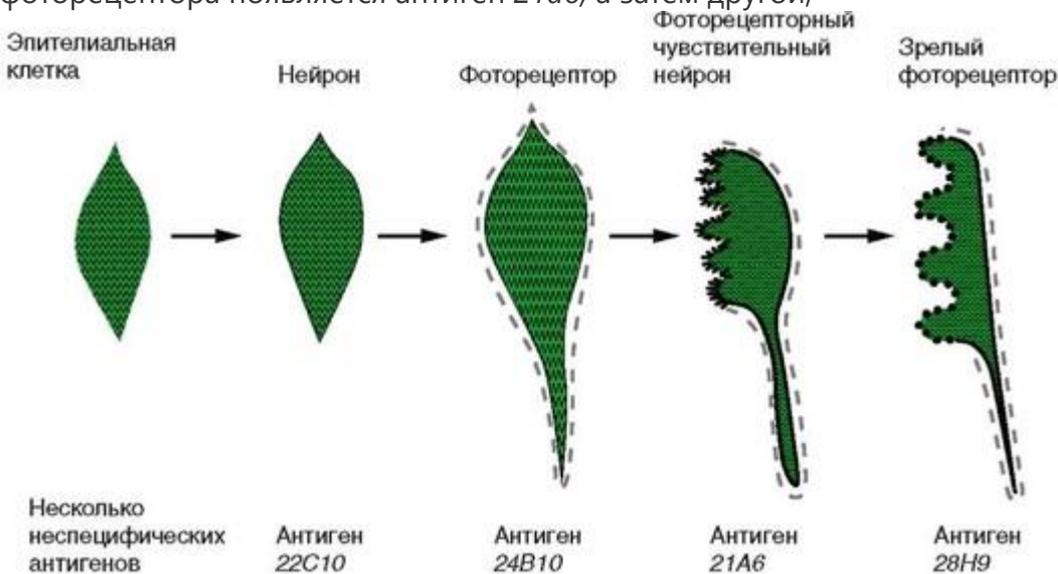


Рис. 8.23. Избирательность синтеза специфических белков клеточной мембраны в ходе дифференцировки нейрона в фоторецептор сетчатки

28H9, специфические для окончательно дифференцированных фоторецепторов сетчатки.

Число активных генов терминальной дифференцировки в специализированных клетках очень невелико. При изучении разнообразия мРНК в почках, печени и головном мозге мышей было обнаружено, что большая их часть была одинакова и представляла собой результат транскрипции генов «домашнего хозяйства». Лишь примерно 1/10 из общего количества активных генов, число которых, как было сказано выше, составляет 1-10%, оказались специфичны для какой-либо одной ткани (т.е. всего около 0,1-1% от общего числа генов генома). Именно они транскрибировались с уникальных нуклеотидных последовательностей генов «роскоши».

Часть клеток развивающегося организма не вступает на путь дифференцировки, сохраняя способность к самообновлению и потенциал к развитию, - стволовые клетки (см. п. 3.1.2). Во взрослом организме присутствуют региональные стволовые клетки, которые могут дать начало одному, нескольким или многим типам специализированных клеток. Они найдены не только в

Источник KingMed.info

хорошо регенерирующих в норме тканях, таких как эпителий и красный костный мозг, но также и в статических, образующих, например, нервную систему и печень. Стволовые клетки играют центральную роль в гистогенезе и, кроме того, составляют существенный восстановительный резерв в организме, способствуя замещению дефектов, возникающих в силу тех или иных обстоятельств в разных органах.

Избирательная экспрессия генов, наблюдаемая в ходе клеточной дифференцировки, основана на действии целого ряда механизмов, которые условно можно разделить на две группы: локальные - внутриклеточные, обеспечивающие избирательную экспрессию генов в отдельной клетке, и системные (межклеточные взаимодействия, эмбриональная индукция, нервная и гуморальная регуляция). Последние, определяя целостность развивающегося организма и достижение определенного конечного результата, регулируют дифференцировку клеток в строго определенном направлении и закономерное расположение различных дифференцированных клеточных типов в целом организме. Еще одним важным механизмом, обеспечивающим процесс дифференцировки и целостное развитие организма, является гетерогенность яйцеклетки (овоплазматическая сегрегация).

Рассмотрим различные механизмы регуляции экспрессии генов более подробно.

8.2.5.2. Локальные механизмы дифференцировки и детерминации

Под экспрессией гена понимают синтез в клетке функционально активной формы белка, кодируемого данным геном. Процесс реализации генетической информации у эукариот к настоящему времени достаточно хорошо изучен, однако регуляция этого многоступенчатого процесса очень сложна и неоднозначна (см. главу 2). Данные, накопленные в результате многолетней и кропотливой работы многих исследователей, позволяют выделить следующие возможные уровни регуляции биосинтеза белков, а, следовательно, и дифференцировки клеток, основанной, прежде всего, на приобретении клетками биохимических различий: регуляция путем соматических мутаций, регуляция транскрипции, регуляция процессинга мРНК и транспорта мРНК в цитоплазму, регуляция трансляции, регуляция на посттрансляционном уровне.

К регуляции путем соматических мутаций могут быть отнесены случаи качественного и количественного изменения генетического материала, происходящие в ходе развития в отдельных соматических клетках. Помимо элиминации хромосом, амплификации генов, образования политенных хромосом (см. п. 8.2.5.1), примером может служить перестройка генов иммуноглобулинов, в результате которой в организме человека иммунокомпетентные клетки могут синтезировать широкий спектр различных белков-антител. В организмах высших животных, в том числе человека, существует более миллиона клонов В-лимфоцитов, различающихся по продуцируемым антителам (иммуноглобулинам). Иммуноглобулины состоят из так называемых легких и тяжелых аминокислотных цепей. Гены для легких цепей содержат 2 переменных сегмента ДНК (V и j) и константный сегмент C . Сегмент v включает около 250 различных нуклеотидных последовательностей, а сегмент j - 4 таких последовательности. На нитях ДНК еще недифференцированных клеток участки v , j и c пространственно разделены. В эмбриональном развитии в ходе дифференцировки в-лимфоцитов промежуточная ДНК элиминируется, и любая из V -последовательностей может сблизиться с любой из j -последовательностей, а их комбинация - с константным C -сегментом, т.е. происходят перемещения (транслокации) нуклеотидных последовательностей ДНК. Таким образом, может быть образовано около 1500 различных комбинаций генов. Гены для тяжелых цепей содержат переменные сегменты V , d и J , состоящие, соответственно, из 500, 15 и 4 последовательностей,

а также константный участок с (рис. 8.24). Их комбинирование дает около 30 000 вариантов. При синтезе конкретного иммуноглобулина объединяются белки, кодируемые одним из генов легких цепей и одним из генов тяжелых цепей, что определяет возможность продуцировать около 100 млн различных типов антител.

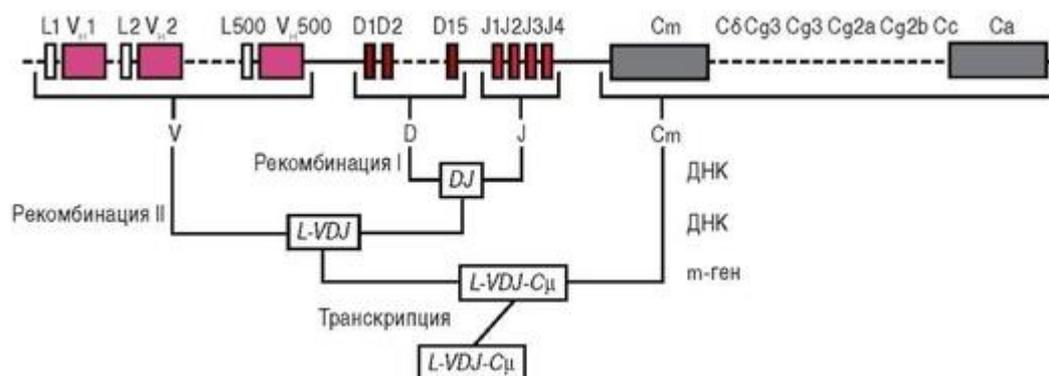


Рис. 8.24. Рекомбинация генов, кодирующих тяжелые цепи иммуноглобулинов (V, D, J и C)

Подобные механизмы, в отличие от обсуждаемых далее, являются скорее исключением и обнаруживаются либо у отдельных видов животных, либо на определенных стадиях развития, либо обеспечивают реализацию конкретной внутриорганизменной задачи.

Как было установлено, в подавляющем большинстве случаев все соматические клетки организма имеют идентичный по количеству и содержанию набор ДНК. Наблюдаемая при их дифференцировке избирательная активность генов регулируется на разных стадиях процесса реализации генетической информации - от транскрипции до посттрансляционных изменений образованных полипептидных цепей - и базируется на действии многообразных механизмов. Экспрессия одного и того же гена может подвергаться действию различных регулирующих механизмов.

Регуляция транскрипции обеспечивает синтез первичных транскриптов (пре-мРНК) только на определенных структурных генах. Некоторые примеры избирательной транскрипции обсуждались ранее - это синтез мРНК на выпетлившихся участках хромосом ооцита типа «ламповых щеток», а также на вздутых участках - пуфах - политенных хромосом в ядрах клеток слюнных желез некоторых насекомых (см. п. 2.4.3.4).

Наборы транскрибируемых генов отличаются в разных клетках на разных этапах развития, что и определяет направление их дифференцировки. В многомодульной регуляции транскрипции в эукариотических клетках принимает участие ряд нуклеотидных последовательностей ДНК, которые выполняют сервисные и регуляторные функции (см. п. 2.4.5.5). Прежде всего, это расположенные в непосредственной близости от кодирующих последовательностей гена участки ДНК: промоторы и операторы. Промоторы связывают РНК-полимеразу, комплекс общих транскрипционных факторов и специфические факторы транскрипции, операторы взаимодействуют с белками-регуляторами и веществами небелковой природы - эффекторами. Наличие нескольких промоторов в одном гене обуславливает альтернативную транскрипцию, т.е. образование различных форм мРНК при инициации считывания с разных промоторов. Так, в гене, кодирующем белок дис-трофин, имеется 8 промоторов, с которых происходит альтернативная транскрипция в разных тканях (сердечных и скелетных мышцах, эмбриональных нейронах, коре головного мозга, сетчатке глаз), что приводит к образованию в этих тканях различных изоформ белка. Обсуждается возможность формирования разных мРНК,

транскрибируемых с одного гена, за счет использования альтернативных терминаторов (рис. 8.25).

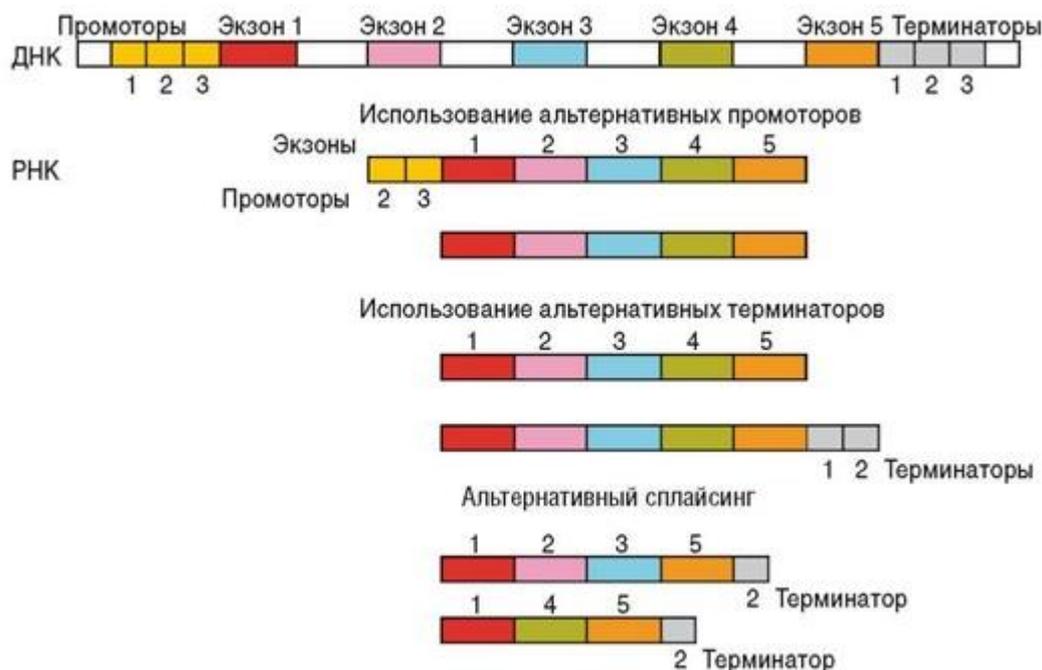


Рис. 8.25. Схема возможных механизмов синтеза различных мРНК с одного гена

Помимо этого имеются области ДНК, называемые энхансерами. Они могут располагаться на значительном расстоянии от регулируемых генов (за тысячи нуклеотидов) и контролировать работу не одного конкретного, а целой группы доступных для них генов. Энхансеры связываются с комплексами белков, которые в зависимости от своего состава могут либо усиливать, либо подавлять транскрипцию данного структурного гена. Воздействие энхансера на конкретный ген осуществляется благодаря изгибу расположенного между ними участка ДНК, в результате чего комплекс энхансер-белки устанавливает непосредственный контакт со структурным геном (см. рис. 2.36). Изгиб становится возможен вследствие деконденсации участка ДНК, расположенного между энхансером и контролируемым им геном.

К процессам, регулирующим активность генов на уровне транскрипции, следует отнести также метилирование-деметилование различных участков ДНК. Метилирование - присоединение метильной группы к цитозину, наблюдаемое в том случае, если рядом с ним находится гуанин, т.е. в составе динуклеотидов ЦГ (*CpG*). У млекопитающих в соматических клетках взрослого организма метилирование ДНК обычно происходит в последовательностях длиной 1000-2000 пар - *CpG*-островках, в которых содержание динуклеотидов ГЦ в 10-20 раз выше, чем в среднем по геному. *CpG*-островки присутствуют в 5' регуляторных областях многих генов. Их метилирование препятствует взаимодействию регуляторных белков (факторов транскрипции) с промотором и блокирует активность генов. Обратный процесс - деметилирование приводит, соответственно, к деблокированию активности генов.

Одно из наиболее значимых в последние годы открытий в области регуляции генной экспрессии в раннем периоде онтогенеза млекопитающих - установление феномена перепрограммирования генома. На стадии дробления от зиготы до бластоцисты отмечается практически тотальное деметилирование генома, (за исключением импринтированных локусов (см. п. 4.1.1)), в результате чего происходит активация генов. Предполагается, что подобные преобразования генома существенны для обеспечения тотипотентности зиготы.

Источник KingMed.info

В период имплантации, когда наблюдается обособление зародышевых и внезародышевых листков (групп клеток), запускается процесс установления тканеспецифичного метилирования. При этом уровень метилирования ДНК в клетках трофобласта возрастает незначительно, в то время как ДНК клеток-производных внутренней клеточной массы, дающих начало эмбриональным структурам, подвергается существенному метилированию. Возрастающая плотность метилирования коррелирует с последующим сужением спектра возможных путей дифференцировки клеток. Показано, что рисунок метилирования оказывается специфическим для данного типа клеток и способствует поддержанию устойчивости его дифференцировки. У человека за процесс метилирования ДНК отвечают три фермента, называемые ДНК-метилтрансферазами (*DNMT1*, *DNMT3a*, *DNMT3b*). Предполагается, что *DNMT3a* и *DNMT3b* - это метилтрансферазы, которые осуществляют формирование рисунка метилирования ДНК на ранних стадиях развития. *DNMT1* является, предположительно, ферментом, поддерживающим метилирование ДНК на более поздних стадиях развития организма и отвечающим за присоединение метильной группы на комплементарной цепи при репликации ДНК дочерней клетки.

Установлено, что изменение доступности промоторов для белков, участвующих в транскрипции, и, следовательно, обеспечение избирательной экспрессии генов достигается также благодаря ацетилированию гистонов. Гистоны целенаправленно модифицируются с помощью ферментов ацетилтрансфераз на тех промоторах, которые требуется активировать. Деацетилирование гистонов, в частности H4, ремоделирует структуру хроматина, повышая степень его компактизации, что приводит к репрессии транскрипции.

Еще один механизм избирательной транскрипции структурных генов в дифференцирующихся клетках связан с пространственной организацией хромосом в интерфазных ядрах. Так, согласно некоторым данным, при дифференцировке В-лимфоцитов гены *CD2*, *CD4*, *CD8-alpha*, *CD19*, *CD45-lambda5* включаются в состав гетерохроматина, в результате чего их экспрессия подавляется. Связь неактивных генов с гетерохроматином осуществляется с помощью белка *Ikaros*, который специфически связывается с промоторами генов и тем самым «рекрутирует» их в состав гетерохроматина.

Другой недавно обнаруженный фактор, влияющий на активность и, возможно, на специфичность транскрипции - размер петлеобразных участков ДНК - доменов, возникающих при прикреплении молекулы к ядерному матриксу (см. п. 2.4.3.2). У шпорцевой лягушки до 12-го деления дробления зародыша транскрипции на его генах не происходит, и петли хроматина не имеют постоянных точек фиксации на ядерном матриксе. С началом экспрессии собственного генома места их прикрепления точно фиксируются. По ходу развития размер хроматиновых петель, как правило, увеличивается. Кроме того, во всех клетках выявлены одинаковые петли ДНК, что позволяет сделать вывод о сохранении в ряду клеточных делений специфической организации доменов, разделенных зонами прикрепления. Предполагается, что при образовании петель могут фиксироваться позиции различных регуляторных элементов и их мишеней - структурных генов, способствуя их взаимодействию либо, наоборот, исключая его.

Регуляция процессинга РНК ранее обозначалась как посттранскрипционная. Считалось, что она осуществляется лишь после окончания транскрипции. По современным данным, однако, процессы «созревания» пре-мРНК протекают еще во время самой транскрипции - **котранскрипционно**.

Один из широко используемых механизмов в процессинге РНК - **альтернативный сплайсинг**. Как известно, только что транскрибированная молекула пре-мРНК состоит не только

Источник KingMed.info

из участков, несущих генетическую информацию (экзонов), но и из некодирующих «вставок» (интронов). Еще в ходе транскрипции интроны удаляются из новосинтезированной мРНК. Оставшиеся экзоны могут соединяться в различных комбинациях, в результате чего из одной молекулы пре-мРНК может образоваться несколько типов более коротких молекул мРНК, кодирующих различные белки (изоформы белка) (см. п. 2.4.5.5, см. рис. 8.25). Было показано, например, что в результате альтернативного сплайсинга первичного транскрипта гена кальцитонина могут быть образованы различные мРНК. В результате в клетках щитовидной железы он экспрессируется в виде гормона каль-цитонина, а в клетках гипофиза - в виде нейропептида *CGRP*, и эти пептиды будут участвовать в дифференцировке совершенно различных типов клеток.

Анализ сотен миллионов фрагментов РНК из разных тканей и органов человека показал, что до 60%, а по некоторым данным, до 94% генов подвергаются альтернативному сплайсингу, причем в разных тканях производятся разные наборы изоформ белков. Благодаря альтернативному сплайсингу разнообразие белков в организме млекопитающих значительно выше, чем у низших животных, хотя количество генов у тех и других примерно одинаково.

Интересно, что среди генов, сплайсинг которых отличается наиболее строгой тканеспецифичностью (в одних тканях всегда или почти всегда синтезируется только одна изоформа, в других - другая) повышена доля генов-регуляторов индивидуального развития, обмена веществ, межклеточных взаимодействий и передачи сигналов. Это именно те функции, от которых зависят структурные и функциональные различия между клетками и тканями.

В ходе формирования функционально активной мРНК может осуществляться также редактирование (эдитинг) РНК. Суть его состоит во внесении изменений в молекулу РНК - замена оснований, вырезание и вставка нуклеотидов, которые позволяют синтезировать иные полипептиды на отредактированных матрицах. Хорошо изучен процесс редактирования мРНК аполипопротеина *B* (*ApoB*) млекопитающих, участвующего в транспорте холестерина и триглицеридов. Обнаружены две формы *ApoB*, кодируемые одним и тем же геном и образующиеся в результате редактирования *ApoB*-мРНК. Ген *ApoB* человека содержит 29 экзонов, и его общая длина составляет 43 тыс. п.о. Длина мРНК этого гена, кодирующей *ApoB100*, составляет 14 тыс. оснований. В середине самого большого экзона 26 имеется глутаминовый кодон САА, который в результате редактирования мРНК превращается в нонсенс-кодон UAA, что приводит к образованию более короткой мРНК длиной в 7 тыс. оснований. В результате трансляции отредактированной мРНК образуется укороченный *ApoB48*. Полноразмерный белок *Apo100* синтезируется в клетках печени и вовлечен в транспорт эндогенно синтезированных триглицеридов и холестерина, *ApoB48* образуется в клетках кишечника и задействован в транспорте жиров, поступающих с пищей и всасывающихся в кишечнике.

Помимо указанных механизмов регуляции избирательной экспрессии генов на уровне процессинга РНК есть еще один - **регуляция транспорта мРНК из ядра**. Например, у млекопитающих лишь около 5% синтезированной РНК покидает ядро и транспортируется в цитоплазму. Достоверно неизвестно, каким образом происходит отбор конкретных РНК, подлежащих участию в трансляции. Однако изучение геномов различных млекопитающих позволяет указать один из механизмов такого отбора. Суть его заключается в том, что в молекулу РНК, служащую матрицей для синтеза белка, вносятся изменения, делающие молекулу «бесмысленной», и тогда она уничтожается. Обнаружено, что подобные изменения вносятся в ультраконсервативные участки ДНК, которые абсолютно идентичны у разных групп млекопитающих, в частности, у человека и мыши. Установлено, что таким образом происходит

Источник KingMed.info

регуляция экспрессии генов, белки которых принимают участие в осуществлении альтернативного сплайсинга.

Следующий уровень регуляции избирательной экспрессии генов - **уровень трансляции**. Даже при одинаковом наборе готовых к трансляции мРНК клетки могут различаться между собой по времени начала и по скорости трансляции. Регуляция трансляции включает в себя репрессию-дерепрессию собственно трансляции, а также стабилизацию-дестабилизацию мРНК (см. п. 2.4.5.6). Наиболее общий пример регуляции такого рода - блокирование трансляции заготовленных в оогенезе материнских мРНК вплоть до активации яйцеклетки. Инактивацию и стабилизацию материнских мРНК в ооцитах обеспечивают определенные белки, например *FRGY2* у шпорцевой лягушки или *p50* у кроликов, участвующие в запасании мРНК в составе рибонуклеопротеиновых частиц - информосом.

В дальнейшем по ходу дробления материнская мРНК вступает в трансляцию также не сразу повсеместно, а по определенной пространственно-временной программе. Устранение блока трансляции на временно инактивированных мРНК после активации яйцеклетки достигается в том числе добавлением большого количества адениловых групп на 3'-конце молекул.

Полиаденилирование происходит у многих эукариотических организмов и является крайне консервативным механизмом регуляции функционирования мРНК на ранних стадиях развития. Полиаденилирование осуществляется поли(А)-полимеразами (*PAP*), одна из которых находится в ядре, а другая локализована в цито плазме.

Существенные задержки в начале трансляции уже заготовленных мРНК отмечены также при дифференцировке эритроидных, спермато-генных и других специализированных типов клеток.

Изменение скорости трансляции наблюдается, например, в ходе дифференцировки клеток хрусталика куриного зародыша: на 6-е сутки эмбрионального развития на 1 молекулу мРНК синтезируется в 5 раз больше соответствующего белка (α -кристаллина), чем на 19-е сутки.

Недавно был открыт новый способ регуляции на уровне трансляции, основанный на так называемой РНК-интерференции. Это явление впервые было обнаружено у круглого червя *Caenorhabditis elegans*, а к настоящему времени выявлено у многих эукариотических организмов, в том числе у человека. В клетке на требуемых стадиях развития благодаря активности определенных генов и последующему процессингу возникают короткие молекулы РНК (размером 21-28 нуклеотидов). Они связываются с комплементарными участками транслируемых мРНК, что приводит к подавлению синтеза белка молекулы, а иногда и к деградации активных мРНК. Возможность РНК-интерференции установлена в цитоплазме яйцеклетки насекомых.

После завершения трансляции осуществляется **посттрансляционная регуляция экспрессии гена**. Вновь синтезированный полипептид, прежде чем стать функционально активным, проходит многочисленные превращения, например отщепление фрагментов, различные химические модификации, например добавление фосфатных или углеводных групп (ацетилирование, фосфорилирование и гликозилирование), изменение третичной структуры, образование в ряде случаев четвертичной структуры из нескольких субъединиц, наконец, так называемую «адресацию» - перемещение к месту окончательного функционирования.

Время и место посттрансляционных превращений, как правило, строго определены. Временная задержка посттрансляционных модификаций может быть достаточно большой. Например, фермент тирози-наза появляется у зародышей амфибий еще в раннем эмбриогенезе, но переходит в активную форму лишь после вылупления зародыша. Роль посттрансляционных

Источник KingMed.info

модификаций в регуляции клеточной дифференцировки изучена еще далеко не достаточно, но предполагают, что она весьма значительна.

Таким образом, представленные в данном разделе механизмы регуляции избирательной экспрессии генов объясняют, каким образом в ходе индивидуального развития может осуществляться процесс дифференцировки различных типов клеток. Следует иметь в виду, что избирательной экспрессии подвергаются, как правило, не отдельные гены, а целые группы (блоки) генов, обеспечивающие специфическую дифференцировку клеток конкретного типа. После активации блока генов их экспрессия поддерживается на определенном уровне. Этим может быть объяснена высокая устойчивость дифференцированного состояния многих типов клеток.

Однако формирование целостного организма в ходе индивидуального развития не сводится только к приобретению специфичности конкретными группами клеток, поэтому применительно к многоклеточному организму клеточная дифференцировка неотрывна от пространственно-временных аспектов и, следовательно, от еще более высоких уровней ее регуляции, нежели уровни регуляции биосинтеза белка на клеточном уровне. На организменном уровне регуляция дифференцировки осуществляется благодаря системным механизмам развития или механизмам интеграции, реализация которых обеспечивает целостность и интегрированность организма на всех стадиях его онтогенеза, начиная с момента образования зиготы. Подробно эти механизмы рассматриваются в следующих разделах.

8.2.6. ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ЯЙЦЕКЛЕТКИ КАК ОСНОВА ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ

Зрелая яйцеклетка, которую Т.Х. Морган справедливо считал самой дифференцированной клеткой в организме, представляет собой мозаичную, высокогетерогенную систему. Один из процессов, приводящий к гетерогенности яйцеклетки - овоплазматическая сегрегация.

Неравномерное распределение компонентов цитоплазмы в яйцеклетке можно обнаружить уже на стадии созревания. Как было показано в п. 7.2, овоплазматическую сегрегацию сопровождает поляризация яйцеклетки. Остановимся более подробно на процессах, приводящих к овоплазматической сегрегации и роли последней в дифференцировке клеток развивающегося зародыша.

Формирование сегрегации цитоплазмы подробно изучено в созревающем яйце дрозофилы. Неоднородность цитоплазмы яйцеклетки возникает в том числе вследствие неравного положения ее полюсов среди клеток материнского организма. К переднему полюсу яйцеклетки примыкают фолликулярные и питающие клетки, которые продуцируют мРНК для белка *bicoid*. Эта мРНК транспортируется в яйцеклетку, и еще до оплодотворения устанавливается градиент ее концентрации с максимумом на переднем конце яйцеклетки, что обуславливает в дальнейшем развитие формирование головных структур зародыша из этой части яйца. Будущий задний полюс соседствует с фолликулярными клетками, которые доставляют в эту область яйца мРНК, считанную с гена *nanos*, детерминирующую образование заднего конца зародыша (рис. 8.26). Таким образом, еще в неоплодотворенной яйцеклетке дрозофилы формируется передне-задняя ось будущего организма. Аналогично задается и дорсо-вентральная ось. Вещества, имеющие четкий градиент распре-

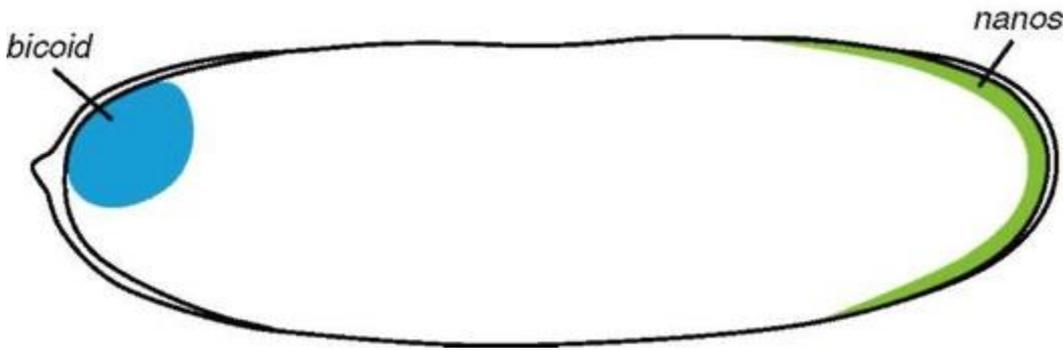


Рис. 8.26. Распределение морфогенов по продольной оси яйца дрозофилы

деления, принято называть **морфогенами**. Следует обратить внимание, что градиенты морфогенов в яйцеклетке дрозофилы создаются благодаря активности в окружающих яйцо фолликулярных и питающих клетках генов материнского организма. Они получили название - «гены с материнским эффектом».

Следует обратить внимание, что большинство запасенных в яйцеклетке мРНК первоначально находится в неактивном состоянии в комплексе с белком в виде информсом. Такие неактивные мРНК могут быть распределены в цитоплазме достаточно равномерно. Создание их градиентов осуществляется благодаря их неравномерной активации. Механизмы активации могут быть различными. Так, например, установлено, что фиксация мРНК на цитоплазматическом матриксе яйцеклетки (локализация мРНК в определенных зонах яйца) приводит к их активации. Показано, что в дальнейшем транслируются только локализованные мРНК, а нелокализованные разрушаются.

Другие механизмы избирательной трансляции запасенных мРНК наблюдаются на следующих этапах формирования овоплазматической сегрегации и связаны с перемещениями цитоплазмы вследствие оплодотворения.

Проникновение сперматозоида в яйцеклетку в момент оплодотворения и последующее движение его пронуклеуса приводит к усилению овоплазматической сегрегации. В яйце наблюдаются сложные перемещения цитоплазмы и ее функциональная перестройка. В результате она становится еще более неоднородной. Этот процесс хорошо заметен в тех случаях, когда разные участки цитоплазмы содержат гранулы веществ разной окраски (желток, темный пигмент и др.).

Хорошим примером может служить яйцо асцидии. Серая цитоплазма центральной части яйцеклетки окружена кортикальным слоем, содержащим желтые липидные включения. На анимальном полюсе располагается светлая цитоплазма с ядерным материалом. Сразу после оплодотворения цитоплазма яйца перемещается, и кортикальный ее слой формирует желтый серп, расположенный между экватором и вегетативным полюсом (рис. 8.27).

Перемещения цитоплазмы вследствие оплодотворения хорошо заметны и в яйцеклетке амфибий. В ней слой темного пигмента меланина первоначально покрывает все анимальное полушарие. После проникновения сперматозоида поверхностный - кортикальный - слой цитоплазмы толщиной в несколько микрометров поворачивается примерно на 30° относительно внутренней массы желтка в направлении, которое зависит от места проникновения сперматозоида. В результате этого у некоторых амфибий против места проникновения спермия появляется серповидная слабопигментированная область, названная серым серпом. В ней позже, в ходе гастрюляции, возникает дорзальная губа бластопора. Вследствие всех указанных перемещений цитоплазмы формируются оси зародыша. Сторона, где формируется серый серп,

становится дорзальной, а противоположная, где наблюдается внедрение сперматозоида - вентральной. Анимально-вегетативная ось соответствует головно-хво-стовой оси будущего зародыша (см. рис. 7.3).

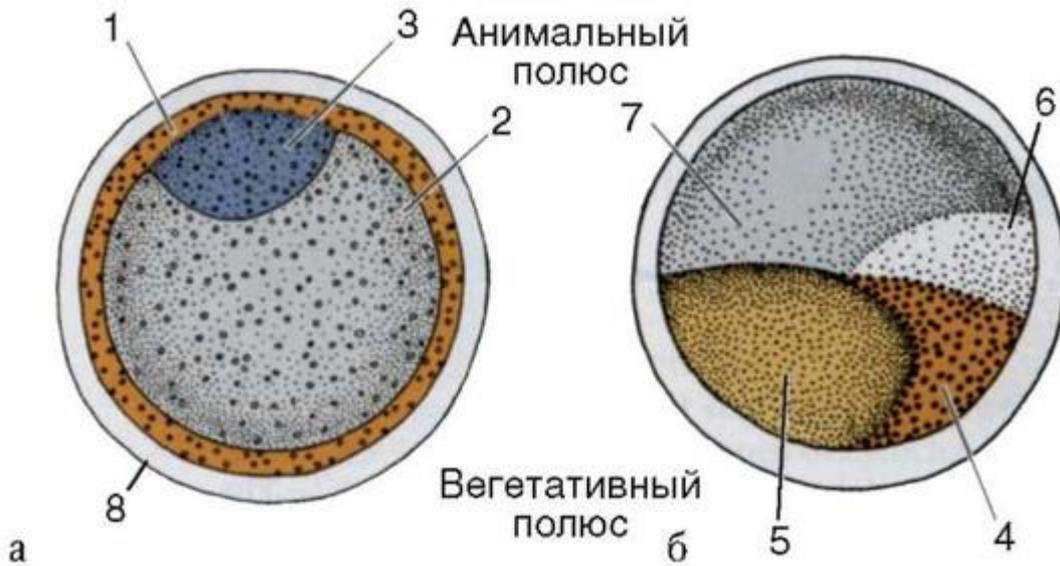


Рис. 8.27. Сегрегация цитоплазмы в яйце асцидии *Styela partita*: а - до оплодотворения; б - после оплодотворения; 1 - кортикальная цитоплазма с желтыми липидными включениями; 2 - цитоплазма, содержащая желток; 3 - светлая цитоплазма с ядром ооцита; 4 - желтый серп; 5 - цитоплазма с желтком; 6 - серый серп; 7 - анимальная светлая цитоплазма; 8 - хорион

Перемещения цитоплазмы вследствие проникновения спермия в яйцеклетку - еще один механизм, приводящий к избирательной трансляции запасенных в яйцеклетке мРНК. В частности, благодаря в том числе и этому механизму осуществляется детерминирование дорсо-вентральной оси зародыша. В оогенезе у амфибий на вегетативном полюсе яйца запасаются мРНК для белка *Xwnt11*. После оплодотворения и поворота цитоплазмы часть этой мРНК перемещается по стороне, противоположной внедрению сперматозоида, в направлении анимального полюса. В области серого серпа происходит полиаденилирование молекул мРНК *Xwnt11*, что приводит к их активации и последующей трансляции. В результате только в этой области яйца образуется соответствующий белок - один из основных дорсализующих факторов. Остальная мРНК для *Xwnt11* в вегетативном полушарии, по-видимому, остается репрессированной. Выполненные исследования установили, что именно поворот цитоплазмы является механизмом, запускающим трансляцию мРНК *Xwnt11* через полиаденилирование.

Анализ результатов многих проведенных экспериментов позволил сделать вывод, что в создании сегрегации цитоплазмы яйцеклетки ведущая роль принадлежит цитоскелету. Так, транспорт мРНК, поступающих из окружающих клеток и синтезированных в самой яйцеклетке, к месту их локализации в цитоплазме осуществляется на большие расстояния по микротрубочкам, а на малые - по микрофиламентам. Считают, что местом локализации в клетке морфогенетических детерминант может быть кортикальный слой или цитоскелет клетки. Предполагают также, что и перемещения цитоплазмы яйца, наблюдаемые после оплодотворения, определяются цитоскелетом. В частности, в этом процессе возможно значительное участие центриоли сперматозоида и отходящих от нее микротрубочек. С помощью нарушающего сборку микротрубочек колхицина удается подавить транспорт и активацию мРНК, перемещения цитоплазмы и ооплазматическую сегрегацию в целом.

Источник KingMed.info

В ходе дробления разные участки цитоплазмы зиготы, содержащие специфический набор веществ, попадают в разные бластомеры. Экспериментами с микроинъекциями коллоидных частиц золота показано, что при дроблении цитоплазма яйцеклетки распределяется между бластомерами, не перемешиваясь. Различия в характере цитоплазмы могут служить регулятором считывания информации с разных генов в разных бластомерах и тем самым влиять на ход их дифференцировки. Показано, что цитоплазматические факторы белковой природы проникают в ядро бластомера и путем избирательной активации или инактивации конкретных генов определяют характер считываемой информации. Полагают, что таким способом морфогенетические детерминанты, содержащиеся в отдельных участках цитоплазмы, жестко, порой необратимо контролируют предопределенность (**детерминированность**) данного бластомера к образованию клеток определенного типа.

Такое жесткое предопределение судьбы бластомеров наблюдается у оболочечников, к которым относятся и асцидии. Неоднократно экспериментально доказано, что у этих животных каждый бластомер ответственен за образование специфического набора тканей личинки, при этом каждая клетка дифференцируется автономно, независимо от окружающих ее клеток. Тунг и другие исследователи пересаживали в цитоплазму бластомера, лишённого генетического материала, ядро из другого бластомера. Показано, что дальнейшее развитие клетки-реципиента идет по пути того бластомера, чья цитоплазма ему досталась. Обнаружено также, что удаление у оболочечников каких-либо бластомеров приводит к отсутствию у личинки как раз тех структур, которые в норме из них формируются, а изоляция определенных групп клеток зародыша приводит к формированию из них характерных структур вне связи с другими клетками. Так, в серии экспериментов на 8-клеточном зародыше оболочечников показана способность только одной пары бластомеров, содержащих фермент ацетилхолинэстеразу, давать начало мышечной ткани.

У асцидий после оплодотворения по-разному окрашенные области цитоплазмы яйца распределяются по разным бластомерам, детерминируя их дальнейшую судьбу. Клетки бластулы, унаследовавшие цитоплазму желтого серпа, дают начало мышечным клеткам, цитоплазму серого экваториального серпа - образуют хорду и нервную трубку, анимальную цитоплазму - становятся эпидермисом личинки, содержащие желток вегетативной области - формируют в ходе развития кишку (см. рис. 8.27).

Жесткая детерминация судьбы бластомеров, определяемая составом веществ попавшего туда участка цитоплазмы яйца, обнаружена и у ряда других животных, например гребневиков, круглых и кольчатых червей, моллюсков. Тип развития этих животных, дифференцировка клеток которых определяется очень рано в развитии благодаря прежде всего ово-плазматической сегрегации, назван **мозаичным**.

Помимо овоплазматической сегрегации в определении судьбы бластомеров на самых ранних этапах развития может принимать участие и другой системный механизм - межклеточные взаимодействия. В этом случае развитие бластомеров в большей степени зависит от их взаимодействий с соседними клетками, межклеточным матриксом, которые определяются положением этих бластомеров в зародыше. Подобный тип развития, наблюдаемый у иглокожих и позвоночных, назван **регуляционным**.

Следует, однако, иметь в виду, что в развитии и мозаичных, и регуляционных зародышей участвуют оба механизма, однако степень их влияния значительно различается, и основную роль играет один из них. Так, локализация специфических белков или м-РНК в определенных областях зиготы не ограничена мозаичными зародышами. Обнаружено, что анимальные и вегетативные

Источник KingMed.info

области яиц амфибий, имеющих регуляторный тип развития, содержат уникальные мРНК. Кроме того, в цитоплазме вентральной области зиготы лягушки была выявлена так называемая половая детерминанта. Клетки, получающие при дроблении цитоплазму с данным веществом, становятся предшественниками половых клеток, и их потомки дают начало гаметам. Показано, что у зародышей ряда других животных, раннее развитие которых является в основном регуляторным и определяется межклеточными взаимодействиями, обнаруживаются подобные половые детерминанты. Содержащие их бластомеры в ходе дальнейшего развития дают начало предшественникам гамет и мигрируют в закладку гонад.

Помимо овоплазматической сегрегации, гетерогенность яйцеклетки определяется также неоднородностью организации ее плазмалеммы. Так, для овулировавших яйцеклеток млекопитающих характерна своеобразная организация цитоскелета, что в свою очередь приводит к мозаичной организации плазматической мембраны. Основная часть мембраны яйцеклетки образует микроворсинки, и лишь примерно от одной десятой до одной пятой общей поверхности яйцеклетки мыши представлено районом, в котором нет микроворсинок. Под плазмалеммой в этой области яйцеклетки располагается густая сеть микро-филаментов, а глубже находится мейотическое веретено метафазы II. У других млекопитающих район, не имеющий микроворсинок, также соответствует той области цитоплазмы, где располагается мейотическое веретено.

При оплодотворении спермий контактирует с мембраной яйцеклетки в любом месте, богатом микроворсинками. После этого микроворсинки исчезают, генетический материал спермия попадает в цитоплазму яйцеклетки, а часть мембраны спермия встраивается в месте его проникновения в мембрану яйцеклетки. В результате возникает разнородность плазматической мембраны, которая отражается на нескольких делениях дробления. Первые два бластомера имеют одинаковый размер, но не вполне одинаковые характеристики. Во время интерфазы синтез рибосомальной РНК в ядрышках этих бластомеров происходит в разное время, продолжительность фазы репликации ДНК у них также неодинакова. Один из бластомеров содержит в плазмалемме антигены, а в цитоплазме - структурные компоненты хвоста спермия. Предполагается, что именно этот бластомер вступает во второе деление дробления на 20-60 мин раньше другого. Мембранные антигены спермия сохраняются в плазмалеммах у потомков этого бластомера еще на протяжении нескольких делений. Установлено, что потомки именно этого бластомера, который на 2-клеточной стадии делится первым, с большей вероятностью дадут начало развитию внутренней клеточной массы бластоцисты, тогда как потомки запаздывающего при делении бластомера с большей вероятностью станут источником для формирования внезародышевых частей эмбриона.

Таким образом, гетерогенность яйцеклетки не только определяет последующую дифференцировку клеток зародыша, но и обеспечивает развитие зародыша как единой системы.

8.2.7. МЕЖКЛЕТОЧНЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ

Межклеточные взаимодействия чрезвычайно важны в развитии и являются одним из механизмов, обеспечивающих интегрированность развития особи. Этот механизм действует на протяжении всего онтогенеза, но особую значимость имеет на ранних этапах эмбриогенеза, а именно, в период дробления.

Так, уже на 2-клеточной стадии зародыш представляет собой не совокупность отдельных клеток, а единый организм. Это может быть показано с привлечением результатов ряда экспериментов. Немецкий эмбриолог Вильгельм Ру разрушал одну из клеток зародыша лягушки на стадии 2

Источник KingMed.info

бластомеров раскаленной иглой. В ходе дальнейшего развития из оставшегося неповрежденными бластомера формировалась только половина зародыша - полунейрула с полным набором структур правой или левой стороны (рис. 8.28). Однако, как известно, на стадии дробления клетки большинства хордовых тотипотентны. И действительно, если повторить описанный эксперимент и сразу отделить убитый бластомер от неповрежденного, то из последнего сформируется абсолютно полноценный организм. Аномальное развитие зародыша в опыте В. Ру наблюдалось вследствие контакта бластомеров. Неповрежденный бластомер, благодаря наличию межклеточных влияний, «определял» себя только как часть целого организма и развивался в соответствии с по-

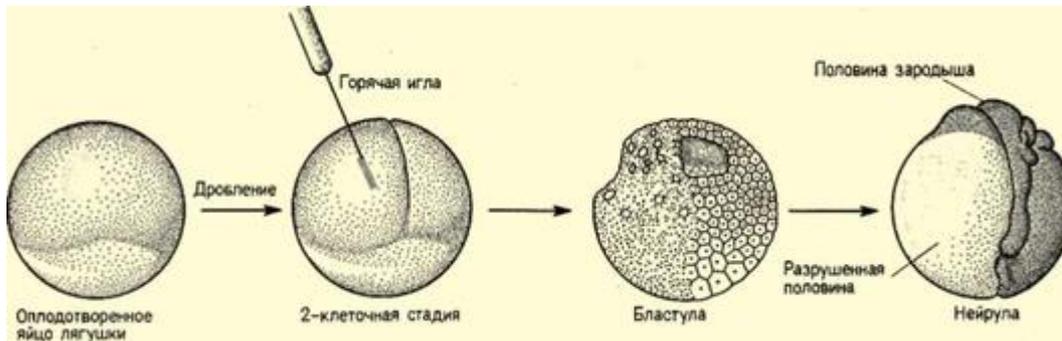


Рис. 8.28. Схема эксперимента В. Ру

лученной информацией. При отделении этого бластомера сигналов к нему от погибшей клетки не поступало, и он давал начало полноценной особи. Таким образом, уже начиная со стадии 2 бластомеров, каждый из них развивается как часть единого организма в соответствии с сигналами, полученными от своего окружения.

Межклеточные взаимодействия - основной механизм дифференцировки клеток зародышей, характеризующихся регуляционным типом развития. Однако у организмов с ярко выраженным мозаичным типом развития также осуществляются подобные взаимодействия между бластомерами. Так, у оболочников только две пары передних бластомеров 8-клеточного зародыша способны образовывать нервную систему, однако развитие нейральных структур возможно лишь при контакте этих двух пар клеток между собой. Если же эти пары бластомеров разобщить, то формирования нервных клеток не происходит.

Внешние сигналы, поступающие прямо или опосредованно от других клеток организма, а также от структур внеклеточного матрикса, играют решающую роль в выборе клеткой направления дифференцировки. Именно такой путь обеспечивает гибкую и тонкую пространственно-временную координацию дифференцировок, без чего невозможно нормальное развитие.

Воздействовать друг на друга клетки могут следующими способами. Во-первых, формируя межклеточные контакты, во-вторых, за счет диффузии веществ от одной клетки к другой, в-третьих, в результате контакта между клеткой и матриксом, сформированным другими клетками (рис. 8.29). При этом могут наблюдаться обмен молекулами, изменение

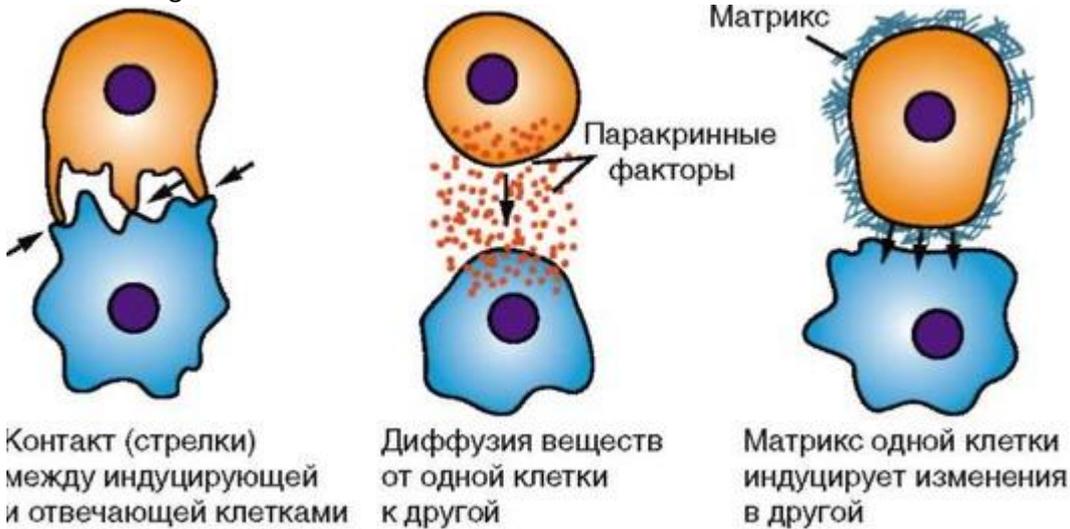


Рис. 8.29. Возможные варианты межклеточных взаимодействий

в межклеточной среде концентрации ионов, выделение продуктов жизнедеятельности, электрические и механические взаимодействия. Было продемонстрировано, например, что на поздних стадиях дробления между клетками зародыша шпорцевой лягушки передаются электрические импульсы. После электрического разобщения клеток дальнейшее развитие нарушается.

Остановимся на значении межклеточных контактов для дифференцировки.

Давно обнаружено, что одиночные эмбриональные клетки дифференцируются плохо, тогда как контакты с соседними клетками существенно активируют этот процесс. Явление получило название «эффект коммунальности». В некоторых случаях увеличение числа клеток в развивающемся фрагменте может привести к расширению спектра его возможных дифференцировок. Так, если срастить вместе несколько дорсальных губ бластопора ранней гастролы тритона, то возникнет более обширный набор осевых зачатков, нежели из одной губы. Напротив, даже кратковременное нарушение межклеточных контактов существенно ограничивает возможности дальнейшего развития этого фрагмента. Например, у амфибий в период гастрюляции даже кратковременное (на несколько десятков секунд) разобщение клеток хордоме-зодермы приводит к изменению их возможностей к дифференцировке. Нарушение контактов между дифференцированными клетками взрослого организма может привести к утрате их дифференцированного состояния, а в некоторых случаях - к злокачественному перерождению.

Яркие примеры влияния межклеточных взаимодействий на процесс клеточной специализации можно наблюдать в ходе дробления.

В эксперименте было показано, что у прудовика, развитие которого мозаично, бластомер $3d$ во время паузы в дроблении на стадии 24 бластомеров увеличивает число своих соседей с 6 до 24. Одно из ближайших последствий «катастрофы связности» состоит в том, что меняются характеристики клеточного цикла этого бластомера, и он делится неодновременно со всеми остальными, имеющими по 5-6 соседей. Вероятно, именно благодаря этому потомки только данной клетки дают начало всей мезодерме и развивающимся из нее структурам.

В ходе дробления мыши на стадии 8-клеточного зародыша происходит его компактизация. Рыхло расположенные клетки внезапно сближаются, площадь контактов между ними увеличивается, и

они образуют компактный клеточный шар. В результате более тесного прилегания друг к другу бластомеры изменяют свою форму от сферической

до уплощенной, при этом контур зародыша сглаживается (рис. 8.30). Между уплощающимися клетками, расположенными на поверхности, возникают плотные контакты, и этот слой изолирует внутренние клетки округлой формы, связанные между собой щелевыми контактами.

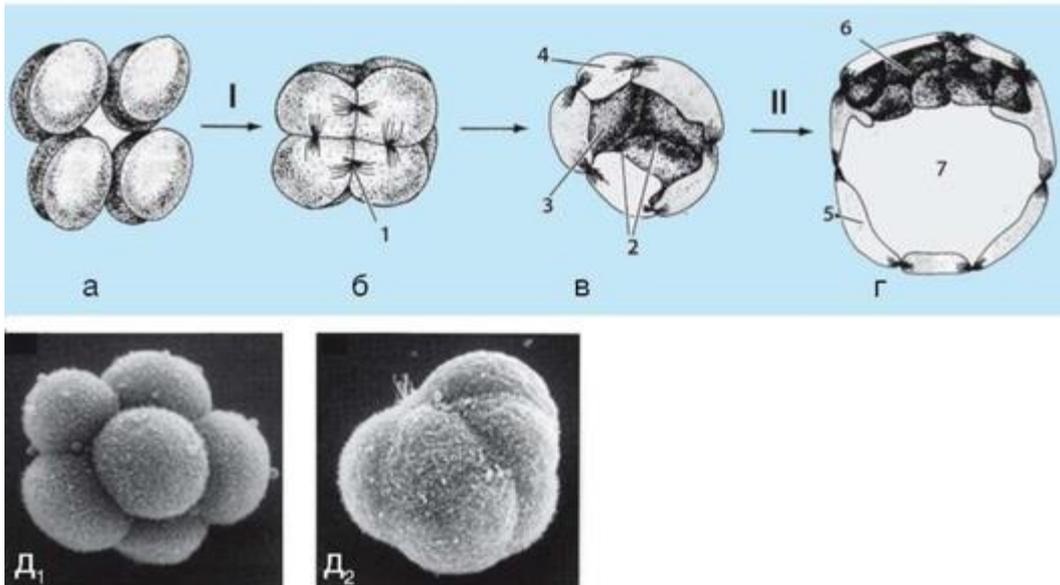


Рис. 8.30. Компактизация и образование бластоцисты: а - ранний 8-клеточный зародыш; б - 8-клеточный зародыш после компактизации; в - морула (32 клетки); г - бластоциста; д - микрофотографии 8-клеточного зародыша мыши (сканирующая электронная микроскопия): д₁ - до компактизации; д₂ - после компактизации. I - компактизация; II - кавитация. 1 - плотные контакты; 2 - щелевые контакты; 3 - внутренняя клетка; 4 - наружная клетка; 5 - клетка трофобласта; 6 - клетка эмбриобласта; 7 - бластоцель

Большая часть потомков наружных клеток, соединенных плотными контактами, становится клетками трофобласта и участвует в образовании плодной части плаценты. Потомки внутренних клеток, объединенных щелевыми контактами, образуют эмбриобласт, который даст начало зародышу и ряду внезародышевых структур, таких как амнион, аллантаис, желточный мешок. Клетки эмбриобласта отличаются от клеток трофобласта не только по своему виду, но и по спектру белков, которые они синтезируют. Таким образом, возникновение различий между этими двумя группами клеток является ранним процессом дифференцировки в развитии млекопитающих, и базирующимся на межклеточных взаимодействиях.

Щелевым контактам принадлежит особая роль в межклеточных взаимодействиях. Это специфические области, где плазматическая мембрана одной клетки вступает в тесный контакт с плазматической мембраной другой клетки. У большинства зародышей по крайней мере ранние бластомеры связаны именно такими контактами, в результате чего небольшие растворимые молекулы и ионы свободно проходят между ними. Показано, что щелевые контакты формируются в точно определенное время, когда возникает необходимость передачи информации от одного бластомера другому.

О значении этих контактов в развитии можно судить по результатам опытов, выполненных на зародышах амфибий и млекопитающих. Когда в один из бластомеров 8-клеточного зародыша амфибии путем микроинъекции вводили антитела к белкам щелевых контактов, то потомки этой клетки не могли обмениваться молекулами веществ с соседними бластомерами. Головастики,

Источник KingMed.info

развившиеся из обработанных таким способом зародышей, оказались дефектными, и эти дефекты развития были прямо связаны с судьбой инъецированной клетки. Потомки такой клетки не погибали, но оказывались неспособными следовать по нормальному пути развития. Контактные взаимодействия между клетками важны для дифференцировки на всех стадиях развития - от самых ранних и до взрослого состояния.

Обнаружено, что при формировании сложных фасеточных глаз у дрозофилы межклеточные взаимодействия распространяются по эмбриональной ткани в виде волны. Области образующихся межклеточных контактов имеют разную форму. Установлено, что дифференцировка клеток зависит от геометрии их контактных зон с соседними клетками. Клетки с одинаковой формой контактов дифференцируются в одном и том же направлении. Среди всех остальных выявляется одна фоторецепторная клетка, которая отличается от других по этому показателю. Именно она может воспринимать ультрафиолетовую область спектра.

Таким образом, межклеточные взаимодействия важны для развития организма и его целостности, особенно в период дробления. Начиная со стадии бластулы, ведущим интегрирующим механизмом онтогенеза становится эмбриональная индукция.

8.2.8. ЭМБРИОНАЛЬНАЯ ИНДУКЦИЯ

По мере развития организма взаимодействия отдельных клеток сменяются взаимодействиями более крупных элементов зародыша - клеточных комплексов, формирующих структуры, ткани, зачатки ор-

ганов зародыша. Примером таких влияний служит **эмбриональная индукция** - взаимодействие элементов развивающегося зародыша, при котором воздействие одного из них направляет (индуцирует) развитие другого. В результате такого взаимодействия запускается цепь морфогенетических (формообразовательных) процессов. Элемент, оказывающий воздействие, назван **индуктором**. Способность воспринимать индукционное воздействие и отвечать на него определяется как компетенция, а элемент организма, способный реагировать на индукционное воздействие изменением своего развития, назван **компетентной тканью**. В результате компетентная ткань становится **детерминированной** (предопределенной) к специфическому типу развития. Далее детерминированное состояние реализуется в процессе дифференцировки (дифференциации).

Следует понимать, что индукционные взаимодействия осуществляются на основе межклеточных, без которых не обходится ни один этап развития.

Феномен эмбриональной индукции был открыт немецким эмбриологом Г. Шпеманом и его ученицей Г. Мангольд в 1921 г. в серии экспериментов по изучению свойств материала хордомезодермы. Для того чтобы иметь возможность проследить за судьбой клеток при трансплантации, были использованы два вида тритонов, отличающихся по окраске эмбриональных тканей: гребенчатый тритон, клетки которого не содержат пигмента, и обычный тритон с пигментированными клетками. Участок дорзальной губы бластопора, содержащий материал хордомезодермы, зародыша гребенчатого тритона на стадии ранней гаструлы пересаживали в (под) боковую или брюшную эктодерму обыкновенного приблизительно той же стадии развития. У зародыша-реципиента в месте пересадки наблюдалось образование второго комплекса осевых органов (хорды, нервной трубки и сомитов). В некоторой доле случаев развитие завершалось формированием дополнительного зародыша (рис. 8.31). По распределению неокрашенных и пигментированных клеток было установлено, что почти вся нервная трубка и значительная часть мезодермы возникли из тканей реципиента, а

Источник KingMed.info

пересаженная хор-домезодерма образовала, как и следовало ожидать, хорду, часть мезодермы, а также небольшой участок нервной трубки.

Описанное явление получило название **первичной эмбриональной индукции**. Зачаток хордомезодермы, локализованный в дорзальной губе бластопора, был назван первичным эмбриональным индуктором. Эктодерма, воспринимающая воздействие и отвечающая формировани-

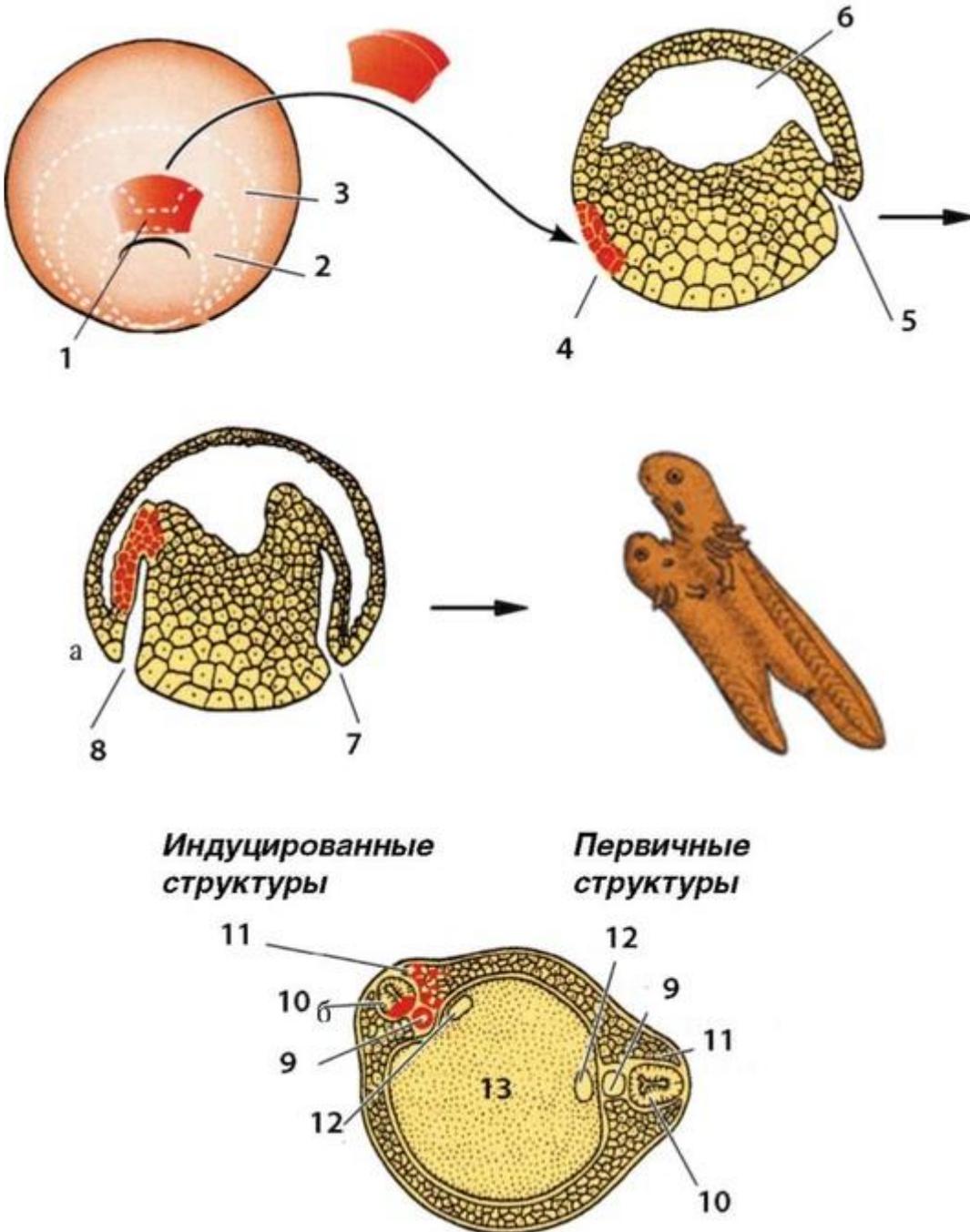


Рис. 8.31. Эксперимент Г. Шпемана по пересадке спинной губы бластопора от зародыша-донора зародышу-реципиенту: а - схема опыта; б - поперечный срез на стадии закладки двух комплексов осевых органов. 1 - спинная губа бластопора; 2 - презумптивная мезодерма; 3 - презумптивная хорда; 4 - материал донора; 5 - инвагинация; 6 - бластоцель; 7 - первичная инвагинация; 8 - вторичная инвагинация; 9 - хорда; 10 - нервная трубка; 11 - мезодерма; 12 - полость кишки; 13 - энтодерма

ем нервной трубки в этом эксперименте представляет собой компетентную ткань.

В ходе дальнейших исследований было показано, что ткань индуктора не сразу приобретает способность направлять формирование всего спектра структур, который образуется под ее влиянием. Наблюдается созревание способности к индукции - постепенное приобретение каждой частью индуцирующей ткани возможности оказывать воздействие на формирование определенных элементов зародыша. Если пересадить дорзальную губу ранней гаструлы, то индуцируется развитие структур переднего мозга, если же пересадить дорзальную губу поздней гаструлы, то развиваются спинной мозг и мезодермаль-ные ткани (рис. 8.32).

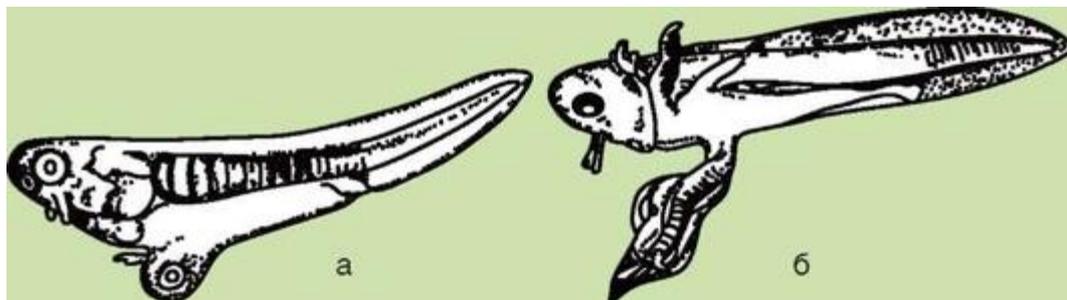


Рис. 8.32. Результаты пересадки дорзальной губы бластопора на стадиях ранней (а) и поздней (б) гаструлы (объяснение в тексте)

Осуществление индукции возможно лишь при условии, что клетки реагирующей ткани способны воспринять воздействие, т.е. являются компетентными. Только в этом случае они отвечают образованием соответствующих структур. Компетенция ткани также возникает на определенной стадии развития. Клетки реагирующей ткани должны пройти определенные фазы развития, прежде чем они приобретут способность к дифференцировке под влиянием сигналов индуктора. Состояние компетенции к воздействию определенного индуктора сохраняется ограниченное время. Затем может появиться компетенция к другому индуктору. Для каждого индуктора также характерно наличие определенного периода функциональной активности.

В эксперименте на амфибиях показано, что компетенция к образованию нервной ткани у амфибий возникает с начала гаструляции и затрагивает всю эмбриональную эктодерму. К концу этой стадии компетенция прекращается. Время контакта между хордой и нейроэктодермой при первичной индукции должно быть не менее 4 ч. При меньшем по времени индуцирующем воздействии формирования нейральных структур не происходит.

Пересадка материала дорзальной губы бластопора на стадии нейру-ляции не приводит к формированию дополнительной нервной трубки. Это объясняется тем, что эктодерма на указанной фазе развития уже не способна отвечать на сигналы данного индуктора. Однако она становится компетентна в отношении иных индукторов. Например, на индуцирующее действие глазного пузыря отвечает образованием хрусталика. Задний мозг сходным образом может индуцировать образование из прилегающей к нему эктодермы слухового пузырька.

Кроме вышперечисленного для эффективного ответа на индуцирующее влияние необходимо наличие в компетентной ткани определенного, минимального числа клеток, т.е. требуется некоторый «порог массы». Одиночные клетки не воспринимают действие индуктора. Если же их число превышает «порог массы» и клетки обладают минимальной организацией, то количество образуемых структур из возможного спектра для данной конкретной индукции зависит от объема реагирующей ткани. Чем больше в ней клеток, тем активнее ее реакция. При этом для оказания индуцирующего воздействия достаточно лишь одной клетки индуктора.

Источник KingMed.info

Во всех классах хордовых индукционные взаимодействия между хор-домезодермальным и нейральным зачатками подобны таковым у амфибий. У зародышей амниот (птиц, рептилий и млекопитающих) зачаток хордомезодермы локализован в области гензеновского узелка. Поэтому второй зародыш сходным образом «организуется» благодаря воздействию спинной губы бластопора, а у птиц и млекопитающих подобное действие оказывает гензеновский узелок. Интересно, что у ланцетника и круглоротых активен только туловищный индуктор, стимулирующий формирование нервной трубки (спинного мозга), а головной индуктор не действует. Это, безусловно, связано с отсутствием головного мозга у бесчерепных и слабым его развитием у круглоротых. У костистых рыб уже присутствуют оба индуктора. В целом формирование гомологичных структур в группах эволюционно родственных организмов происходит под контролем сходных индукций. Так, для формирования придатков кожи необходимо стимулирующее влияние мезодермы на эпидермис кожи. Показано, что начальные этапы формирования кожных придатков у амниот можно индуцировать дермой зародышей других классов, например дерма ящерицы стимулирует развитие волос в эпидермисе мыши. Это свидетельствует о том, что эмбриональная индукция как один из важнейших механизмов развития имеет большое эволюционное значение, а сами индукторы зачастую эволюционно консервативны.

После открытия явления первичной эмбриональной индукции были предприняты неоднократные попытки идентифицировать индуцирующие молекулы, выделяемые первичным организатором, определить их свойства и механизм действия. В 1932 г. группа исследователей, возглавляемая Г. Шпеманом, экспериментально продемонстрировала химическую природу индуцирующего сигнала, вызывающего формирование нейральных структур. Вскоре выяснилось, что индукцию могут вызывать разнообразные убитые ткани, вытяжки из различных живых тканей беспозвоночных и позвоночных животных, а также растений, несколько классов химических соединений (белки, нуклеопротеины, стероиды и даже неорганические вещества).

Новый этап исследований молекулярных механизмов эмбриональной индукции начался примерно 20 лет назад, когда благодаря прогрессу молекулярной биологии оказалось возможным связать индукционные процессы, как и вообще клеточную дифференцировку, с активацией или репрессией работы определенных генов, ответственных за синтез специфических белков.

Было установлено, что на ранних стадиях эмбриогенеза в зародыше синтезируются белки семейства *BMP* (от англ. *bone morphogenetic proteins* - морфогенетические белки, получаемые из костного мозга), входящие в надсемейство *TGF- β* - трансформирующих факторов роста β . Их концентрация наивысшая на вентральной стороне зародыша. Белки секретируются в межклеточное пространство, связываются с мембранными рецепторами эмбриональных клеток и препятствуют их дифференцировке в нервную ткань и другие производные осевых зачатков, позволяя развитие только в сторону покровной эктодермы. Для осуществления формирования нервной трубки (нейральной дифференцировки) взаимодействие *BMP* с рецепторами мембран клеток-мишеней должно быть предотвращено.

Клетки шпемановского организатора - хордомезодермы - секретируют в межклеточное пространство белки *chordin* и *noggin*. Их функция состоит в том, чтобы связывать молекулы *BMP* в межклеточном пространстве, препятствуя их взаимодействию с мембранными рецепторами клеток. В отсутствие *BMP* клетки дорзальной эктодермы дифференцируются в нервную ткань (рис. 8.33). Таким образом, реализуется «**индукция по умолчанию**», поскольку данная дифференцировка не

требует дополнительных стимулирующих воздействий, а нуждается лишь в блокировании *BMP*, и именно его осуществляет шпемановский индуктор.

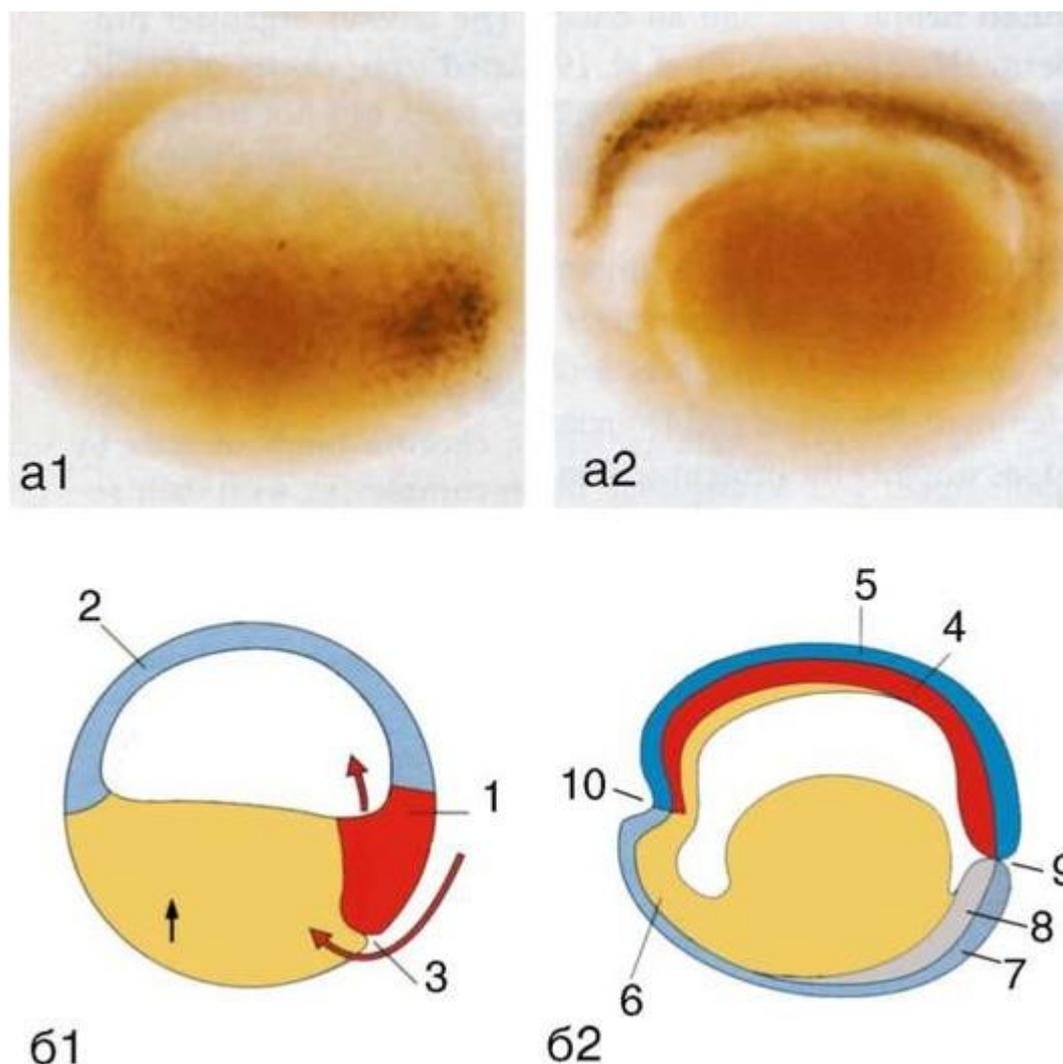


Рис. 8.33. Локализация мРНК белка *noggin* в ткани зародыша амфибии, выявленная методом гибридизации *in situ* (черные точки): а - фотографии; б - соответствующие схемы. а1, б1 - бластула; а2, б2 - гастрюла. 1 - шпемановский организатор; 2 - презумптивная эктодерма; 3 - место начала инвагинации (дорзальная губа бластопора); 4 - зачаток хорды (хордомезодерма); 5 - нейроэктодерма; 6 - энтодерма; 7 - эктодерма; 8 - мезодерма; 9 - бластопор; 10 - место образования будущего рта

Это открытие привело к существенному пересмотру традиционных представлений о первичной индукции. Ранее считалось, что базисный путь дифференцировки эмбриональных клеток, не требующий индукционных влияний, - их развитие в покровную эктодерму.

Подразделение нервной системы на отделы также осуществляется путем «индукции по умолчанию». Выяснено, что в межклеточном пространстве на стадии гастрюлы присутствуют белки семейства *Wnt*. Оказалось, что если не препятствовать их связыванию с рецепторами клеток презумптивной (предполагаемой) нейральной эктодермы, то вся нервная пластинка развивается в спинной мозг. Вещества семейства *Wnt* связываются в межклеточном пространстве белками *Cerberus* и *Dickkopf*, которые секретируются передней частью хордомезодермы - прехор-дальной пластинкой. Следствием такого взаимодействия становится активация в клетках, соответственно, передней части нервной пластинки определенных генов,

Источник KingMed.info

среди которых *OTX-2*, *anf* и другие, что и приводит в результате к формированию головного мозга и его отделов.

Однако механизмы индукции не определяются только лишь включением и выключением определенных генов. Как и любой процесс в организме, регуляция индуктивных взаимодействий осуществляется на нескольких уровнях, она многогранна и к настоящему времени еще далеко не полностью изучена. Так, несмотря на многочисленные эксперименты, не удалось с достоверностью обнаружить химический фактор, выделяемый глазным бокалом и необходимый для индукции хрусталика, хотя его существование утверждается рядом исследователей.

Как было показано в предыдущем разделе, межклеточные взаимодействия, лежащие в основе индукции, могут осуществляться не только вследствие выделения клеткой каких-либо факторов, но и при непосредственном межклеточном контакте, а также через матрикс. Все это справедливо и для индуктивных взаимодействий. Например, установлено, что для развития метанефрогенной мезенхимы формирующейся почки под действием чужеродного индуктора (нервной ткани) необходим непосредственный контакт между клеточными отростками индуктора и реагирующей ткани. Роль компонентов внеклеточного матрикса в индуктивных процессах показана в том числе и в экспериментах со стволовыми клетками. Одна и та же стволовая клетка при добавлении в среду коллагена IV типа может дать начало эпителиальным клеткам, при добавлении фибронектина и коллагена I - соединительной ткани, а коллагена II - хрящу.

В 50-60-е гг. XX в. голландский эмбриолог П. Ньюкоп продемонстрировал, что первым индуцирующим событием в развитии зародыша является не воздействие хордомезодермы на дорзальную эктодерму на стадии ранней гастрюлы, а осуществляемая на стадии бластулы индукция энтодермой (клетками, расположенными на вегетативном полюсе зародыша) преобразования смежных клеток в хордомезодермальную закладку (рис. 8.34). По сути дела, данное событие и есть истинно первичная эмбриональная индукция, что было подтверждено экспериментально. После удаления у зародыша-бластулы вегетативных клеток образования хорды и ряда мезодермальных структур не происходило. Опыты по рекомбинации клеток зародышей показали, что наиболее дорзальные бластомеры вегетативного полюса индуцируют развитие хорды и сомитов, а прочие клетки этого полюса определяют образование вентральных мезодермальных структур, прежде всего боковой пластинки. Таким образом, шпемановская индукция базируется на прошедшей перед этим индукции мезодермы. Но так как открытие Г. Шпеманом было сделано раньше, за ним закрепилось наименование **первичная эмбриональная индукция**. Все индукции, осуществляемые после нее, называют вторичными, третичными и т.д.

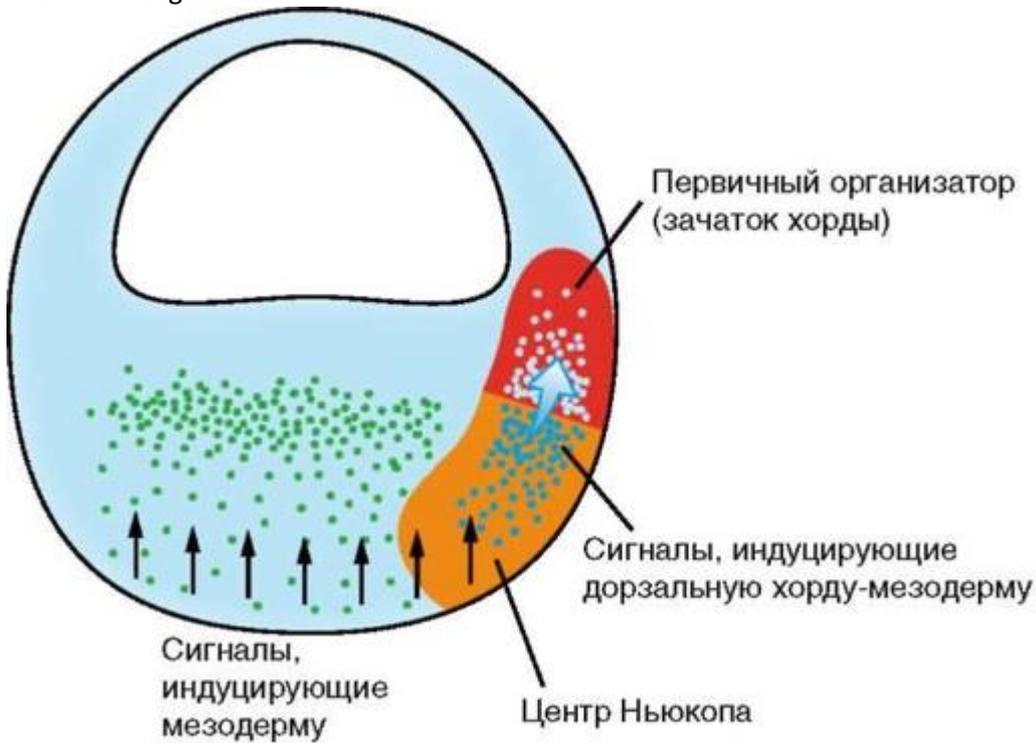


Рис. 8.34. Схематическое изображение влияний, реализуемых при индукции Ньюкопа на стадии бластулы

Описанные эксперименты могут быть расценены не как проявление индукционных влияний, а как один из примеров межклеточных взаимодействий. Однако они, несомненно, доказывают преемственность этих механизмов развития.

Действительно, начиная со стадии бластулы, уже на самых ранних этапах гаструляции выявляется выраженная кооперативность клеточного поведения, когда действуют не отдельные клетки, а клеточные группы, составляющие зачатки структур, тканей и органов особи. Гетерогенность клеточных популяций, взаимодействие между собой отличающихся друг от друга комплексов клеток - основа, на которой возникает дифференциальная активность генов на тканевом уровне, что приводит к дифференциации структур и формированию органов.

Под **дифференциацией** понимают возникновение в процессе развития в отдельном участке (структуре, части) организма морфологических и функциональных различий. Дифференциация структур базируется на дифференцировке клеток развивающегося организма.

В настоящее время установлено, что процессы эмбриональной индукции представляют собой каскад взаимодействий, которые определяют последовательное формирование структур и органов зародыша, его полноценное развитие. По современным данным, материальная основа этого каскада закладывается еще в оогенезе. Так, у амфибий неизменной составной частью инициации данного процесса является описанный в п. 8.2.6 поворот оплодотворения.

В ходе роста ооцита амфибий поблизости от его вегетативного полюса синтезируется большое число белков, впоследствии участвующих в индукционных процессах, в том числе факторы семейства *Wnt-1* и надсемейства TGF- β . мРНК для всех этих белков были синтезированы в оогенезе на хромосомах типа ламповых щеток. Ньюкоповская индукция опосредуется, в частности, белком *Vg1*, принадлежащим к надсемейству TGF- β . Другие участники этого процесса - белок *dishevelled*, синтезируемый в вентральной области яйцеклетки в период оогенеза, и β -катенин, который исходно распределен в цитоплазме зиготы более или менее равномерно. Вскоре после оплодотворения β -катенин подвергается ферментативному расщеплению, однако

Источник KingMed.info

на дорсальной стороне зародыша активность расщепляющего фермента подавляется белком *dishevelled* (*Dsh*), который перемещается в эту область зародыша именно в результате поворота оплодотворения. Вследствие этого на дорсальной стороне β -катенин сохраняется и по мере делений дробления перемещается в клеточные ядра бластомеров (рис. 8.35). Роль β -катенина состоит в том, что он связывается с промоторами определенных генов, активируя их.

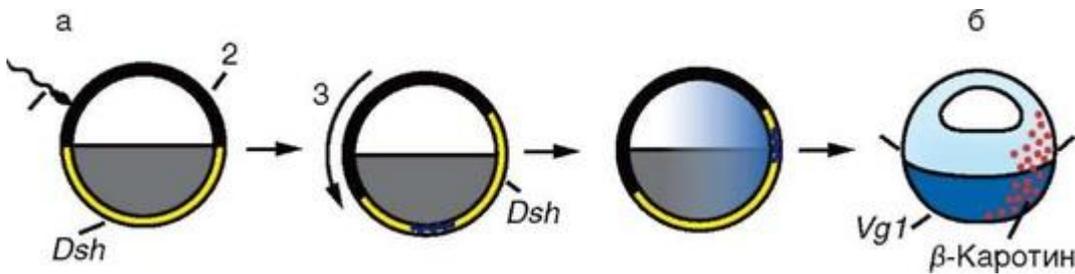


Рис. 8.35. Схема взаимодействия генов, инициированного поворотом оплодотворения у амфибий: а - последовательные стадии изменения распределения белка *dishevelled* (*Dsh*) в результате оплодотворения, б - распределение в цитоплазме зиготы; 1 - сперматозоид, 2 - кортикальный слой цитоплазмы, 3 - поворот оплодотворения, 4 - брюшная сторона зародыша, 5 - спинная сторона

Кодируемые ими белки, в свою очередь, оказывают аналогичное влияние на другие гены, и в результате запускается целая цепь генов, активирующих друг друга и участвующих в реализации индукционного каскада. Продукт одного из активированных таким образом генов - *gooseoid* - воздействует в клетках шпемановского организатора на гены, кодирующие уже знакомые нам белки *chordin* и *noggin*, т.е. факторы первичной эмбриональной индукции.

Как было сказано выше, дифференциация большинства структур и органов в процессе развития зависит от предшествующих индукционных событий. При этом в ходе их реализации наблюдается последовательная смена индукторов и состояний компетентности. Именно таким образом взаимодействие между зачатком хордомезодермы и дорзальной эктодермой инициирует цепь формообразующих процессов. Сформированные в результате первичной эмбриональной индукции хорда и нервная трубка необходимы при дифференцировке клеток мезодермы для образования сомитов и для дифференцировки хрящевых клеток из дерматомов. Наличие сомитов в свою очередь обязательно для нормального формирования отделов кишечной трубки. Присутствие дорзальной энтодермы кишки оказывает индуцирующее влияние на развитие кроветворных участков мезодермы и т.д.

Индукция носит не только каскадный, но и переплетающийся, взаимный (реципрокный) характер, что может быть проиллюстрировано на примере формирования глаза (рис. 8.36.). Вырост переднего мозга - глазной пузырь - инициирует образование хрусталиковой плакоды из лежащей над ним эктодермы. Далее направление индукции меняется и, сформировавшись, хрусталиковая плакода, в свою очередь, вызывает изменения в глазном пузыре, передняя стенка которого инвагинирует, и пузырь превращается в двустенную чашу - глазной бокал. Одновременно с этим два слоя глазного бокала начинают дифференцироваться в разных направлениях: внутренний становится сетчаткой, а наружный - пигментным эпителием.

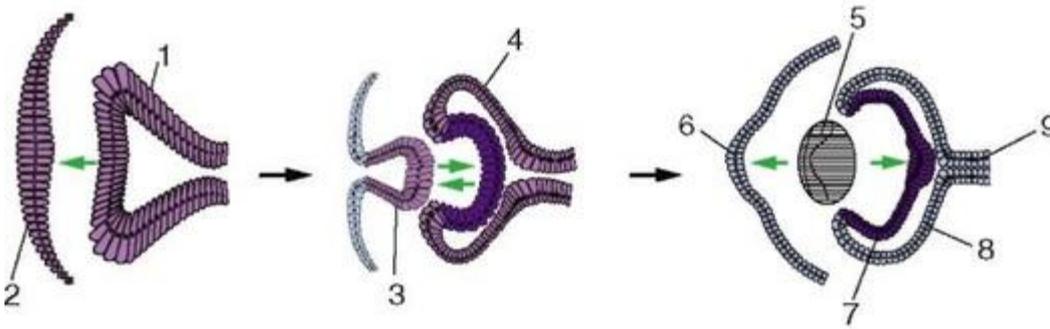


Рис. 8.36. Схема, иллюстрирующая реципрокный характер индукции: 1 - глазной пузырь, 2 - покровная эктодерма, 3 - формирующийся хрусталик, 4 - глазной бокал, 5 - сформированный хрусталик, 6 - роговица, 7 - нейральный слой сетчатки, 8 - пигментный слой сетчатки, 9 - зрительный нерв

Под действием сетчатки, которая на этом этапе становится индуктором, из хрусталиковой плакиды образуется хрусталик. Последний вызывает формирование роговицы из прилегающей к нему эктодермы и оказывает направленное действие на окончательную дифференцировку клеток глазного бокала. Роговица в свою очередь также приобретает свойства индуктора и участвует в формировании век. Интересно отметить, что образующийся хрусталик выделяет вещества, препятствующие развитию еще одного хрусталика.

Интересен факт, что в индукции может наблюдаться «кумулятивный» эффект, т.е. в индукции той или иной структуры может участвовать не одна, а несколько тканей. Например, глазной бокал служит главным, но не единственным индуктором хрусталика. В ходе развития презумптивный хрусталик, т.е. эпидермис, из которого затем должен развиваться хрусталик, во время гаструляции лежит над энтодермой будущей глотки, первого индуктора хрусталика. Затем под этим эпидермисом оказывается сердечная мезодерма, которая также действует как индуктор. И только позднее, во время нейруляции на переднем конце нервной трубки выпячиваются глазные пузыри, образующие глазной бокал и сетчатку, являющуюся главным индуктором хрусталика (рис. 8.37). Путем удаления той или иной из индуцирующих тканей определили степень участия каждой из них в индукции хрусталика. Оказалось, что при удалении сетчатки глазного бокала у 42% зародышей амфибий все же формировались хрусталики и, следовательно, энтодерма и мезодерма в сумме обладают почти таким же индуцирующим действием, как и сетчатка глазного бокала. Полагают, что многочисленность индуцирующих тканей может иметь решающее значение для точного установления места формирования органа. Кроме того, последовательные индукции могут играть важную стабилизирующую роль в развитии, обеспечивая нормальное течение органогенеза, даже если один из компонентов индуцирующей системы не сумеет произвести сигнал нужной силы.

Различают **гетерономную** и **гомонамную** индукцию. К **гетерономной** относят случаи, при которых одна структура зародыша индуцирует формирование иной структуры (хордомезодерма индуцирует появление нервной трубки и всего зародыша в целом). **Гомонамная** индукция заключается в том, что индуктор побуждает окружающий материал к развитию в том же направлении, что и он сам. Например, область нефротомы, пересеженная другому зародышу, способствует развитию окружающего материала в сторону формирования головной почки, а прибавление в культуру фибробластов сердца маленького кусочка хряща влечет за собой процесс образования хряща.

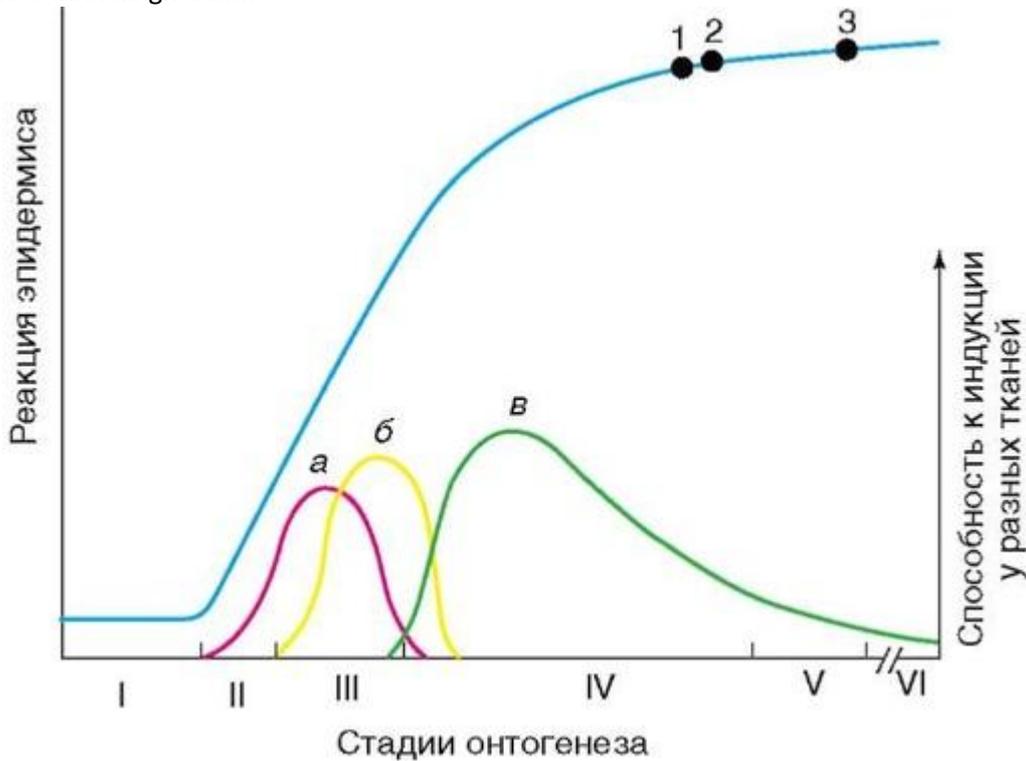


Рис. 8.37. Последовательные индукционные взаимодействия, необходимые для образования хрусталика у зародыша амфибии: I - ранний зародыш; II - гастрюла; III - нейрула; IV - стадия хвостовой почки; V - личинка; VI - взрослая особь. 1 - хрусталиковая плакода; 2 - хрусталиковый пузырек; 3 - хрусталиковые волокна. а - энтодерма; б - сердечная мезодерма; в - сетчатка

Установлено, что индуктивные взаимодействия наиболее характерны для онтогенеза животных, характеризующихся регуляционным типом развития. Что же касается организмов с явно выраженным мозаичным онтогенезом, то у них явления типа эмбриональной индукции имеют меньшее значение, однако также оказывают определенное воздействие на клеточную дифференцировку. Например, ряд аналогичных процессов наблюдается в формировании нервной системы.

Так, у асцидий, на стадии 8 бластомеров, когда уже все основные зачатки предопределены, проводили некоторые перемещения клеток. Материал хордомезодермы и основная часть нейрального материала у них локализованы в заднем вегетативном бластомере. Небольшая часть нейрального материала, формирующего головной ганглий, находится в заднем анимальном бластомере, расположенном над задним вегетативным (рис. 8.38). Для проверки индукционных взаимодействий между ними анимальный ярус бластомеров поворачивали на 180° так, чтобы задний анимальный бластомер терял контакт с задним вегетативным. Головной ганглий не развился нигде. Это означает, что для развития головного ганглия необходимо индукционное влияние на задний анимальный бластомер со стороны заднего вегетативного. Кроме того, очевидно, что задний анимальный бластомер не обладает автономностью развития, но только он компетентен к восприятию воздействия со стороны заднего вегетативного бластомера, содержащего хордомезодермальный зачаток.

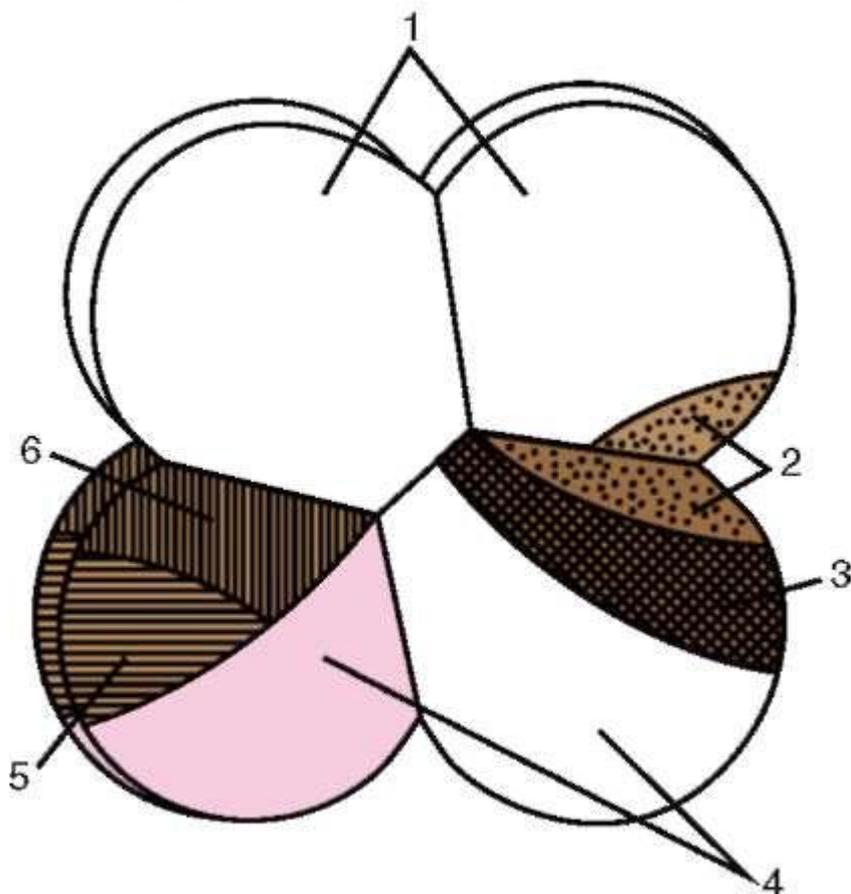


Рис. 8.38. Карта презумптивных зачатков у зародыша асцидий на стадии восьми бластомеров: 1 - эпидермис; 2 - нервная пластинка; 3 - хорда; 4 - энтодерма; 5 - сомиты, 6 - мезодерма

Полноценная эмбриональная индукция зависит от того, насколько точно соответствует в развитии время созревания индуктора и компетентной ткани. В нормальных условиях компетентная ткань способна отвечать формообразованием в момент стимулирующего импульса от индуктора. Рассогласования во времени созревания индуктора и компетентной ткани нарушают ход соответствующих морфогенетических процессов. Мутации, вызывающие такие рассогласования, вероятно, распространены довольно широко.

Так, становление пигментации у амфибий определяется взаимодействием эпидермиса (индуктора) и ткани нервного гребня, который служит источником меланобластов, мигрирующих субэпидермально под влиянием индуктора. Одна из мутаций в гомозиготном состоянии резко ослабляет окраску аксолотля, так что лишь спина животного слегка окрашена (так называемая белая раса аксолотлей). Экспериментально показано, что отсутствие окраски определяется рассогласованием во времени созревания двух взаимодействующих закладок, составляющих единую индукционную систему. При трансплантации кусочков презумптивного эпидермиса между зародышами аксолотлей белой расы разного возраста обнаружено, что при некоторых сочетаниях возраста донора и реципиента в трансплантате развивается пигментация.

Исследования, выполненные к настоящему времени, позволили сделать вывод, что большинство индукционных процессов, особенно на более поздних стадиях органогенеза, являются **пермиссивными**. Это означает, что индуктор лишь запускает процесс дифференцировки, а его результат определяется свойствами компетентной ткани. В этом случае индуцирующий стимул как бы высвобождает ответ, уже predeterminedенный в клетках

Источник KingMed.info

реагирующей ткани. Так, например, формирование конечности может быть индуцировано пересадкой слухового пузырька, носовой плакоды или гипофиза.

Изучение эмбриональной индукции, ее молекулярных и клеточных механизмов активно продолжается. Кроме того, это явление представляет большой теоретический интерес, т.к. позволяет оценить взаимоотношение таких процессов, как детерминация, дифференцировка и морфогенез.

8.2.9. НЕРВНАЯ И ГУМОРАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ РАЗВИТИЯ

Гуморальную регуляцию развития, осуществляемую путем распространения различных веществ через жидкости, следует отнести к дистантным взаимодействиям, т.е. к тем, которые реализуются на расстоянии от источника.

Вещества (лиганды), участвующие в такой регуляции, можно разделить на два типа. Молекулы лигандов первого типа в силу своей гидро-фобности или же газовой природы свободно проникают через липидные компоненты клеточной мембраны. Сюда относятся стероидные гормоны: эстрогены, кортизол и другие; ретиноевая кислота, играющая важную роль в развитии ряда структур, например конечностей; окись азота (*no*) и активные формы кислорода.

Ко второму типу лигандов относятся белковые молекулы, которые не проникают в цитоплазму, а связываются с рецептором клеточной мембраны или с внеклеточными белками. Наиболее важные из них - белковые гормоны (инсулин, гормон роста) и факторы роста (см. п. 8.2.1).

Рассмотрим в качестве примера регулируемую роль некоторых гормонов. Так, у дрозофилы в эксперименте через несколько минут после инъекции гормона линьки - экдизона в политенных хромосомах наблюдается появление 6 новых пучков. Синтезируемые на этих нуклеотидных последовательностях белки через некоторое время индуцируют экспрессию десятков и даже более других последовательностей ДНК, в результате чего действие гормона многократно усиливается. Экдизон относится к группе стероидных гормонов, которые могут активировать синтез всех видов РНК - не только матричной, но и транспортной и рибосомальной, активируя тем самым все этапы биосинтеза белка.

Важно помнить следующее. Гормон взаимодействует только с клетками, имеющими рецептор к нему. Таким образом, он может оказывать действие лишь на определенные органы. Кроме того, в разных клетках-мишенях гормоны воздействуют на различные группы генов, и поэтому они могут оказывать разнонаправленное воздействие. Так, сложные морфогенезы в онтогенезе амфибий, обеспечивающие превращение головастика в лягушку, происходят под действием гормонов щитовидной железы, главным образом тироксина. Его влияние приводит к исчезновению хвоста и жаберных щелей, перестройке черепа, позвоночника и всего пищеварительного тракта, формированию конечностей, изменению строения кожи, в которой появляются многоклеточные слизистые железы. Другими словами, под действием гормона на данном этапе развития меняется вся организация особи.

У муравьев с помощью ювенильного гормона определяется не только морфофизиологические характеристики развивающегося организма, но и его место в иерархии популяции. В группе муравьев есть крупная фертильная матка, стерильные рабочие самки, крупные рабочие муравьи-солдаты с широкой головой и большой нижней челюстью и малые рабочие особи с хорошо развитыми ногами. Какая именно особь сформируется - определяется уровнем ювенильного гормона в развивающемся организме. В свою очередь, уровень гормона зависит от питания: чем лучше рацион, тем больше гормона, и тем дольше он выводится из организма. Пока гормон присутствует, личинка муравья растет и не может претерпеть линьку, после которой наступает

Источник KingMed.info

оукливание. Более длительный рост особи до линьки приводит к развитию более крупного взрослого муравья. Малые рабочие муравьи претерпевают оукливание при размере личинки 1,3 мм, а солдаты - 1,8 мм. Этот же гормон играет важную роль в определении, какая из самок станет маткой.

Нервная регуляция развития осуществляется на более поздних стадиях онтогенеза, когда нервная система будет сформирована и начнет функционировать. С этого момента нервные влияния наряду с гуморальными воздействиями станут основными интегрирующими механизмами в ходе всего дальнейшего онтогенеза особи.

8.2.10. КОНТРОЛЬ РАЗВИТИЯ

Онтогенез - это реализация генетической программы организма в определенных условиях среды. Следовательно, процесс развития находится под контролем генетических и средовых факторов.

8.2.10.1. Генетический контроль развития

Очевидно, что **генетический контроль развития** существует, так как набор генов, получаемый организмом при оплодотворении, обеспечивает развитие из зиготы особи совершенно конкретного вида. Каким образом гены определяют процесс развития? Это центральный и очень сложный вопрос, некоторые аспекты которого уже удалось прояснить, но для всеобъемлющего и убедительного ответа на него данных явно недостаточно. Главный прием изучения генетики индивидуального развития - использование мутаций. Выявив мутации, изменяющие онтогенез, проводят сравнение фенотипов мутантных особей с нормальными. Это помогает понять, как данный ген влияет на развитие. В настоящее время в биологии развития используется ряд новых методик, среди которых, например, техники *knock out* (делеции гена) или *knock down* (селективного подавления экспрессии гена с помощью мРНК-антагониста), метод *FISH* (применение меченых фрагментов ДНК для выявления определенных молекул мРНК и их распределения в клетке и зародыше). Использование этих и ряда других подходов позволяет выяснить помимо функции генов в развитии, время и место их действия, определить наличие взаимодействия между генами и его характер.

Дифференцировка клеток и опосредованная ею постепенная прогрессирующая последовательная и закономерная дифференциация частей развивающегося зародыша осуществляется, как было сказано ранее, благодаря дифференциальной активности генов (см. п. 8.2.5). Так как у эукариот регуляция экспрессии генов носит многоуровневый характер, то «включение» того или иного гена и его транскрипция еще не означают выхода кодируемого им признака в клеточный фенотип. Процесс формирования большинства признаков очень сложен и зависит от активности продуктов не одного, а многих генов, градиента распределения генных продуктов в развивающемся зародыше, а также от особенностей их взаимодействия друг с другом.

Анализ генетического контроля затрудняется несколькими моментами. Прежде всего, тем, что роль генов неодинакова. Часть их экспрессируется практически во всех клетках, определяя жизненно важные функции и отвечая, например, за синтез тРНК или ДНК-полимеразы, без которых невозможно функционирование ни одной клетки - гены «домашнего хозяйства». Другая часть - гены «роскоши» - непосредственно участвует в детерминации, дифференцировке и морфогенезе, т.е. функция их более специфическая, и их активность проявляется в определенных клеточных популяциях (см. п. 3.1.3).

Источник KingMed.info

Для анализа генетического контроля необходимо, кроме того, знать место первичного действия конкретного гена, что позволяет различать случаи **относительной**, или **зависимой**, **плейотропии** от **прямой**, или истинной, **плейотропии**. В случае относительной плейотропии, как, например, при серповидноклеточной анемии, существует одно первичное место действия мутантного гена - гемоглобин в эритроцитах, а все остальные наблюдаемые при ней симптомы, такие как нарушение умственной и физической деятельности, сердечная недостаточность, местные нарушения кровообращения, увеличение и фиброз селезенки и многие другие, возникают как следствие аномального гемоглобина. При прямой плейотропии все разнообразные дефекты, возникающие в различных тканях или органах, вызывает непосредственное действие продукта одного и того же гена именно в этих разных местах. Если рассматривать развитие с точки зрения реализации генетической информации, то оно представляется как многоступенчатый динамический процесс с постоянно меняющимися спектрами экспрессирующихся генов в зависимости от стадии онтогенетической дифференцировки. Важно понимать, что в каждый момент развития число вовлеченных в этот процесс генов очень велико - многие сотни и даже тысячи, которые располагаются на разных хромосомах или/и в пределах одной хромосомы. Это предполагает очень четкую координацию их экспрессии на протяжении всего онтогенетического развития и существования уже сформированного дифференцированного организма. Таким образом, становится понятным применение термина «программа развития», что подразумевает наличие строго упорядоченной и скоординированной во времени и пространстве экспрессии огромного числа генов. Все больше экспериментальных подтверждений получает концепция, согласно которой продукты генов предшествовавших стадий развития активируют новые генные наборы и/или репрессируют отдельные гены в последующие стадии. Такой тип взаимодействия генов определяют как каскадный, что подчеркивает преемственность в экспрессии генов ранних и более поздних стадий (рис. 8.39).

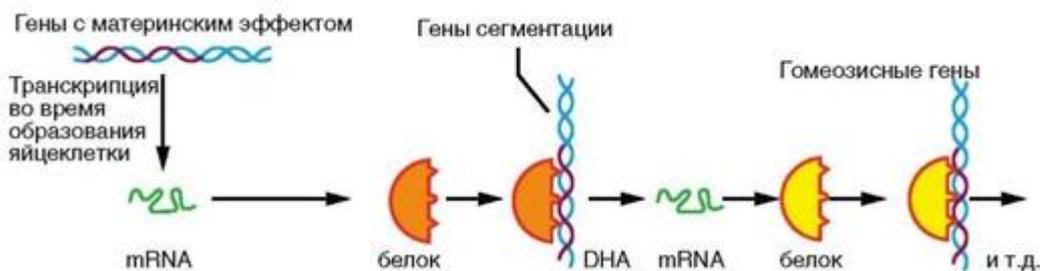


Рис. 8.39. Каскадное взаимодействие генов

Преемственность генов в развитии может быть продемонстрирована на примере эмбриогенеза плодовой мушки дрозофилы. Ее эмбриональное развитие регулируется иерархической системой из трех классов генов: **генов с материнским эффектом**, **генов сегментации** и **гомео-зисных генов**.

Гены с материнским эффектом активны в организме самки. Их продукты запасаются в яйце и уже после оплодотворения определяют пространственные оси эмбриона: продольную (передне-заднюю) и дорсально-вентральную оси. К этому классу генов относятся *bicoid* и *nanos*, о которых речь шла в разделе 8.2.6. Продукты генов с материнским эффектом, как правило, являются ДНК-связывающими белками, которые в качестве **факторов транскрипции** активируют или блокируют экспрессию генов зародыша, в том числе генов сегментации.

Продукты **генов сегментации** - также транскрипционные факторы, они контролируют образование сегментов, из которых состоит насекомое. Их подразделяют на несколько групп:

Источник KingMed.info

гар-гены, *pair-rule* гены и гены сегментарной полярности (табл. 8.3), образующих согласованную систему, благодаря активности которой эмбрион подразделяется на все более мелкие сегменты. Сегментационные гены последовательно активируются в процессе индивидуального развития (рис. 8.40).

Таблица 8.3. Гены сегментации

<i>Gap</i> -гены	<i>Pair-rule</i> гены	Гены сегментарной полярности
kruppel knirps hunchback giant tailless huckebein	hairy even-skipped runt fushi-tarazu add-paired odd-skipped sloppy-paired	engrailed wingless cubitus interruptus hedgehog fused armadillo patched gooseberry paired naked dishelved

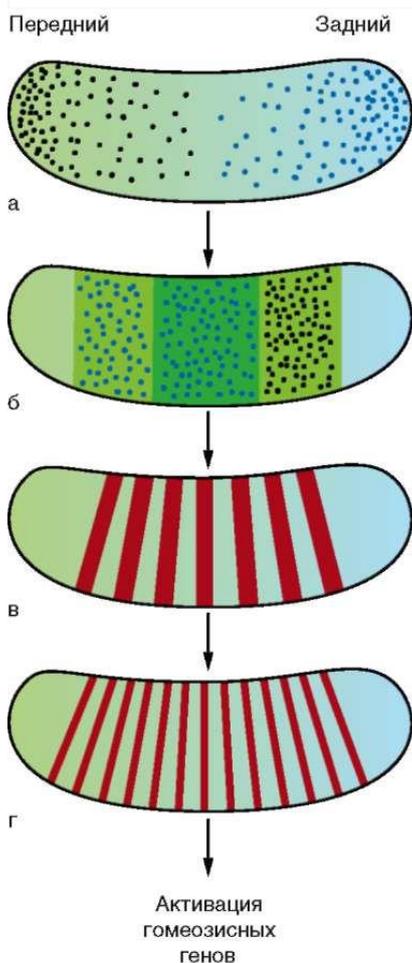


Рис. 8.40. Последовательное уточнение судьбы клеток в течение эмбриогенеза у дрозофилы: а - продукты генов с материнским эффектом; б - продукты гар-генов; в - продукты *pair-rule* генов; г - продукты генов сегментарной полярности

Источник KingMed.info

гар-гены (от англ. *gap* - брешь). Они экспрессируются до 11-го деления зиготы и «делят» зародыш на широкие полосы. Их транскрипция стимулируется продуктами генов с материнским эффектом. Мутации генов группы *gap* приводят к потере нескольких прилежащих друг к другу сегментов тела, в результате чего в рисунке сегментации образуется пустота, или брешь. На фоне специфического распределения продуктов гар-генов и под их влиянием активируются *pair-rule* гены (или гены «правила парности»), которые «дробят» зародыш на так называемые парасегменты - каждый из них по ширине равен двум возникающим позже сегментам тела личинки. Мутации в группе генов *pair-rule*, экспрессируемых в период 11-12-го деления, приводят к потере каждого второго сегмента. Продукты *pair-rule* генов, в свою очередь, запускают экспрессию генов сегментарной полярности. Их активность в зародыше дрозофилы выявляется в

период 13-го деления. Эти гены детерминируют границы конкретных сегментов зародыша и создают пространственную дифференцировку внутри каждого сегмента. У мутантов по генам сегментарной полярности определенные части сегментов заменены структурами, представляющими зеркальные отражения прилежащих половин сегментов. Все гены сегментации, последовательно активируемые в ходе эмбриогенеза, оказывают друг на друга взаимные влияния через кодируемые ими продукты (рис. 8.41). Следствием их экспрессии является активация **гомеозисных генов**. Это большой класс генов, которые считаются ключевыми в развитии и обеспечивают качественную спецификацию сегментов, т.е. определяют, какой конкретно сегмент - головы, груди или брюшка - и с какими структурами должен быть сформирован.

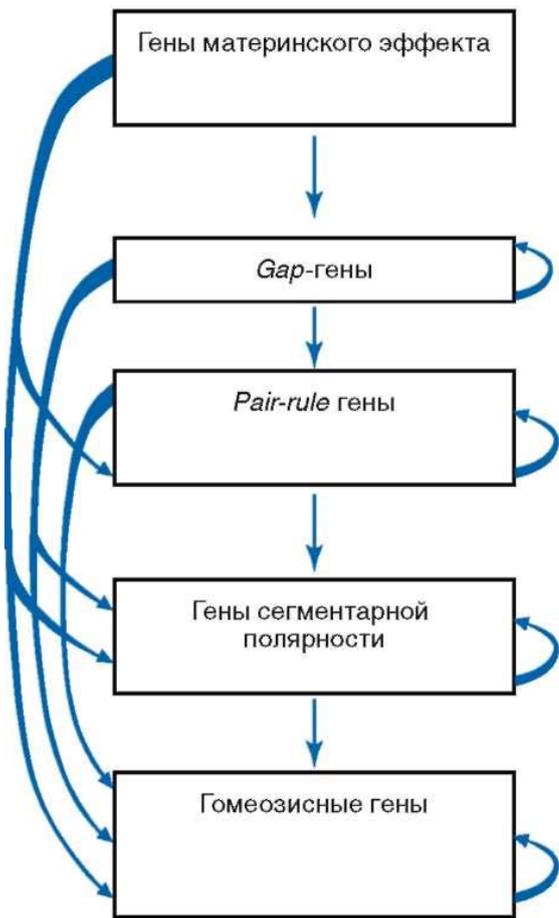


Рис. 8.41. Схема взаимодействия генов, контролирующих сегментацию в раннем развитии дрозофилы

Источник KingMed.info

Название этой группы генов происходит от термина «гомеозис» который ввел в 1894 г. один из классиков генетики У. Бэтсон. Под «гомеозисом» он понимал превращение одной части тела в другую. Мутации по гомеозисным генам могут изменить структуру какого-либо сегмента или его придатков, например вызвать образование на голове мухи конечностей вместо антенны или аристы (рис. 8.42), но не изменяют количество или полярность сегментов.

Гомеозисные гены относятся к селекторным генам, т.е. таким, которые активируют или, напротив, подавляют другие гены, продукты которых уже прямо вовлечены в процесс формирования различных органов. Гомеозисные гены кодируют белки - факторы транскрипции, скоординированно регулирующие транскрипцию генов начальных звеньев генетических формообразовательных программ. Их белки-продукты, в свою очередь, влияют на экспрессию большого числа нижестоящих генов-мишеней, участвующих в реализации генетической программы образования конкретной структуры или органа. Таким образом, гомеозисные гены определяют выбор дифференцировки целого участка тела развивающегося организма.

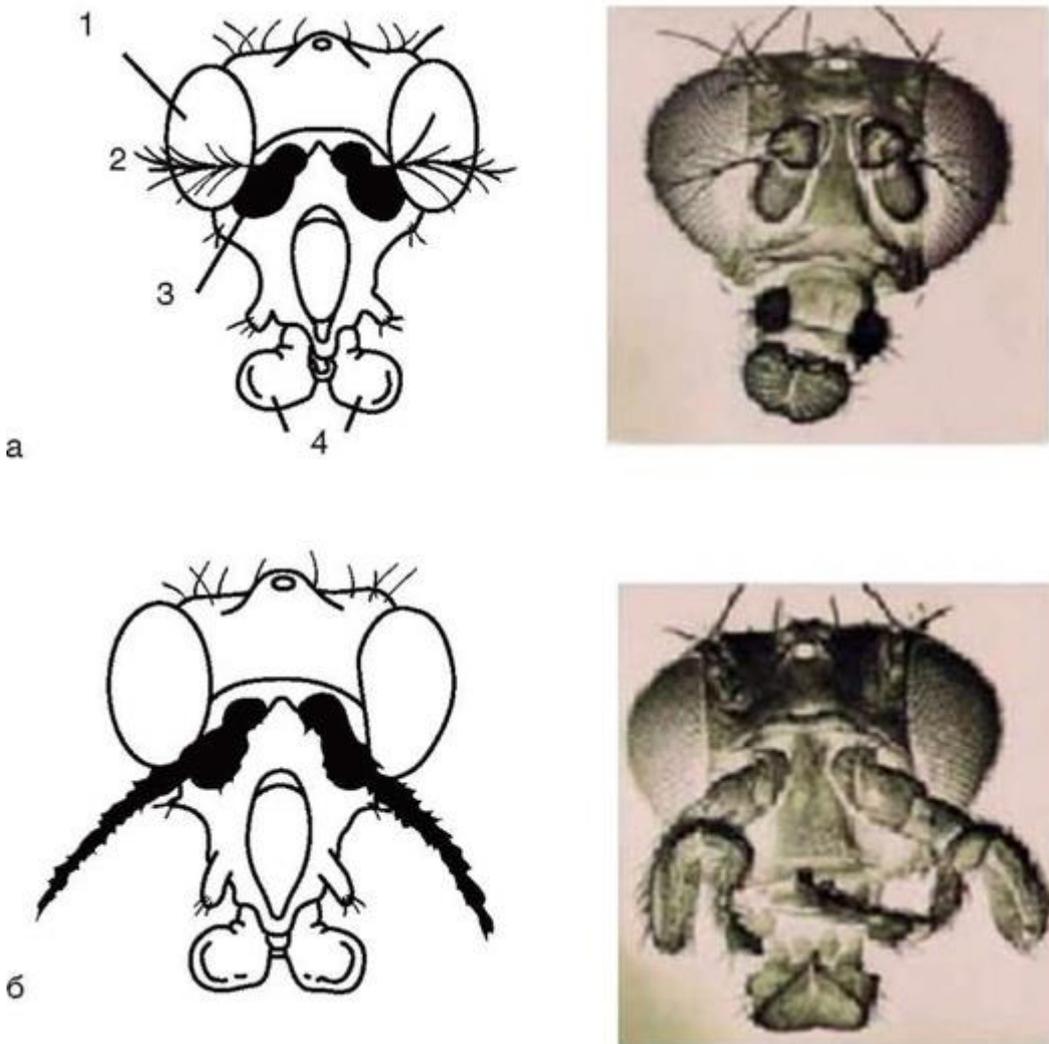


Рис. 8.42. Гомеозисная мутация у дрозофилы: а - норма; б - муха с мутацией. 1 - глаз; 2 - ариста; 3 - антенна; 4 - ротовой аппарат

Белковые продукты гомеозисных генов содержат специфическую последовательность из 60 остатков аминокислот - **гомеодомен**, обладающую высоким сродством к некоторым последовательностям нуклеотидов ДНК, с помощью которой они связываются с этими сайтами ДНК и таким образом влияют на экспрессию других генов. Так, у дрозофилы белковый продукт гомеозисного гена *Antennapedia* активирует гены, которые определяют структуру второго

Источник KingMed.info

грудного сегмента, содержащего ноги и крылья, и репрессирует гены, вовлеченные в формирование глаз и антенн.

Гомеодомен кодируется последовательностью из 180 п.н., называемой **гомеобокс**, которую содержит каждый из гомеозисных генов.

Гомеобокс впервые был обнаружен в составе генов, контролирующих развитие, в частности, в составе гомеозисных генов, у дрозофилы. Однако многие гены, содержащие гомеобокс, не являются гомеозисными. Таким образом, гомеобокс - это особая последовательность нуклеотидов, а гомеозисность - это потенциальная возможность образования гомеозисной мутации.

Гомеозисные гены дрозофилы образуют два комплекса, локализованные на третьей хромосоме. Гены каждого комплекса в хромосоме расположены очень близко друг к другу, формируя кластеры. Комплекс *Antennapedia* (*ANT-C*), содержит 5 генов (*labial (lab)*, *Deformed (Dfd)*, *Sex comb reduced (Scr)* и *Antennapedia (Antp)*) и определяет развитие головы и передних грудных сегментов мухи. Второй комплекс - *Bithorax*, включающий 3 гена (*Ultrabithorax (Ubx)*, *AbdominalA (abdA)* и *AbdominalB (abdB)*), контролирует развитие задних грудных (торакальных) и брюшных сегментов (рис. 8.43). Мутации в гене *Antennapedia* приводят

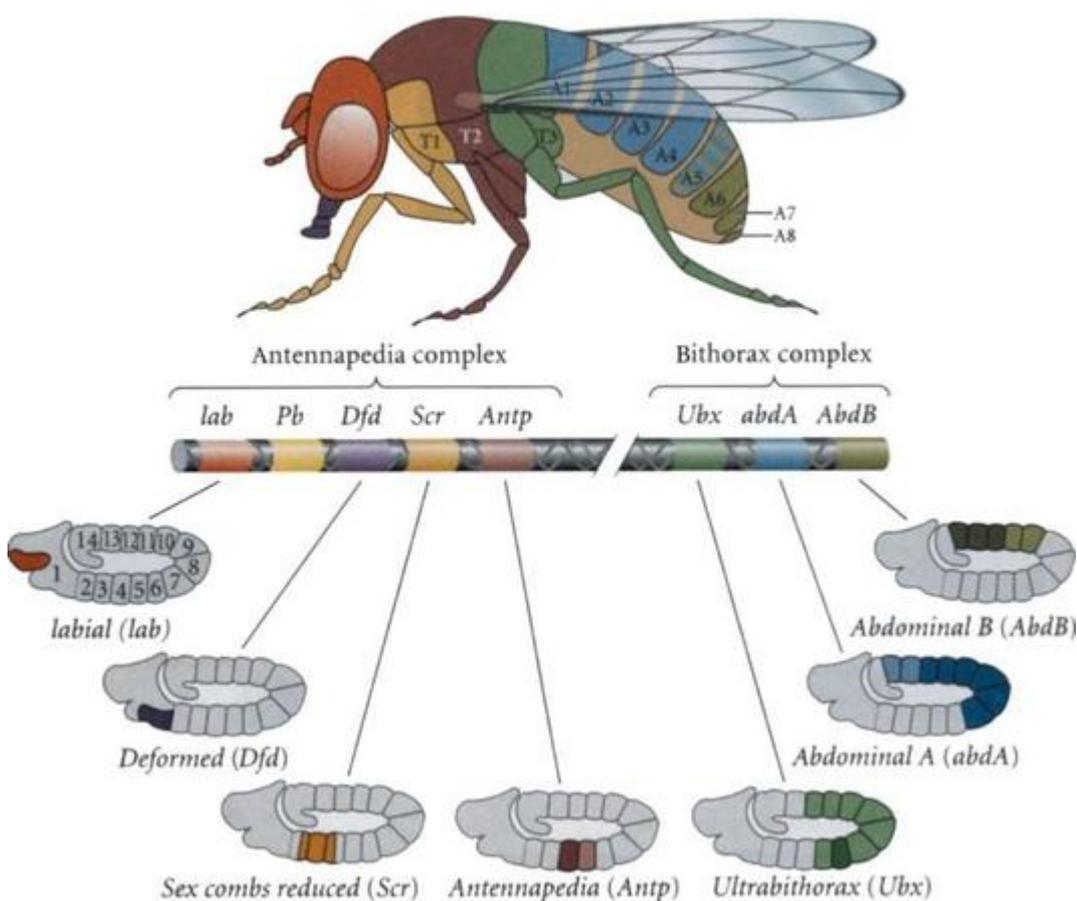


Рис. 8.43. Гомеозисные гены дрозофилы

к образованию конечностей на голове мухи вместо антенн. Мутация, подавляющая активность гена *Ultrabithorax*, приводит к образованию второй пары крыльев вместо жужжалец.

После того как были открыты и изучены гомеозисные гены дрозофилы, сходные гены были найдены у всех других животных от стрекающих, например медуз, до человека. Число кластеров гомеозисных генов в ходе эволюции менялось (рис. 8.44).

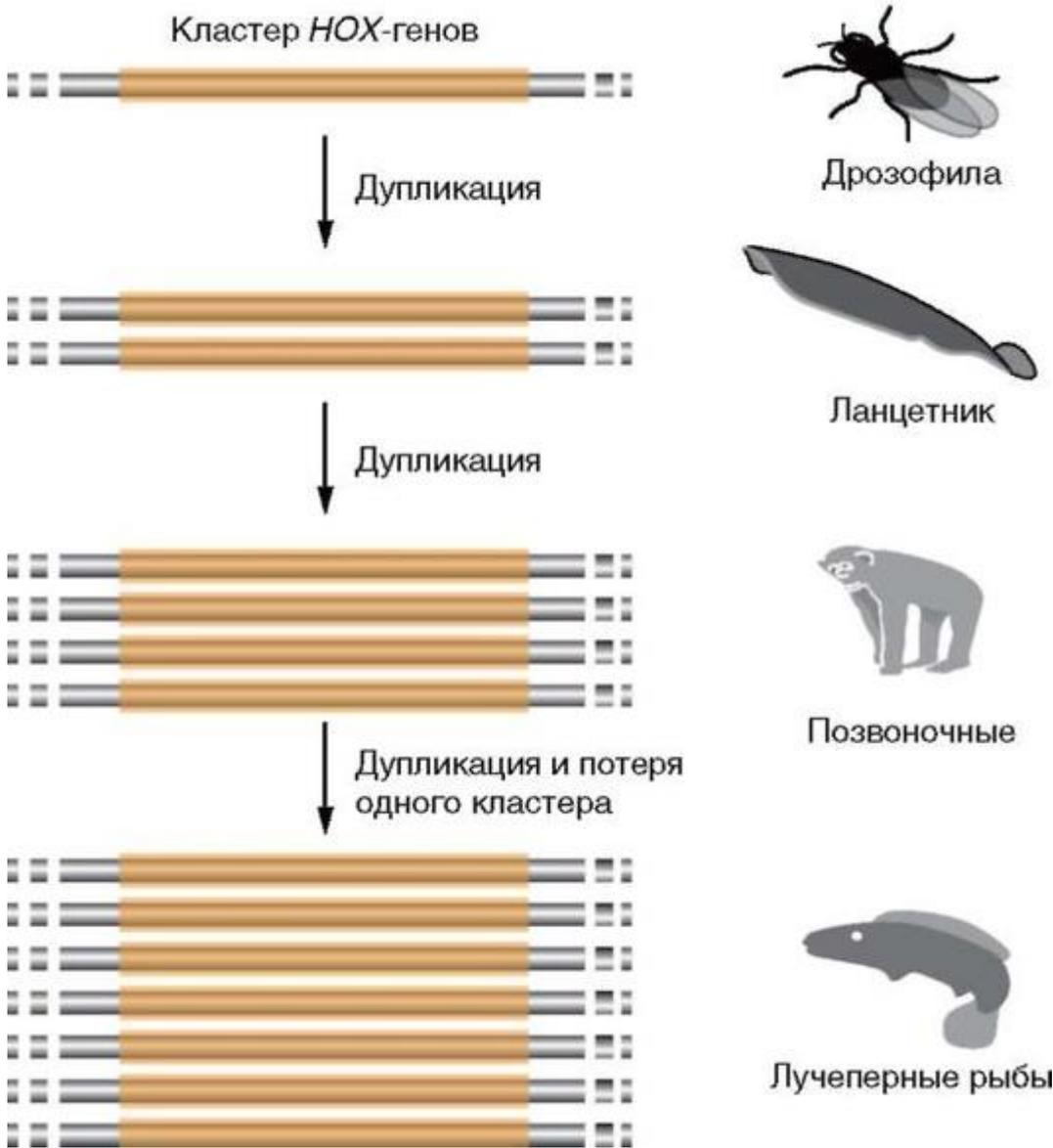


Рис. 8.44. Изменение числа кластеров гомеозисных генов в эволюции у некоторых групп животных

В различных таксонах гомеозисным генам были даны разные названия, что привело к путанице в номенклатуре. Так, в случае некоторых первичноротых гомеозисные гены, как было показано у дрозофилы, составляют два кластера *Antennapedia* и *Bithorax*, которые вместе называют *НОМ-С* (гомеозисный комплекс, *Homeotic Complex*). В случае вторичноротых (в частности, у человека и большинства других позвоночных) гомеозисные гены называют *Нох*-генами и в геноме выявлено четыре их кластера: *НохА*, *НохВ*, *НохС* и *НохD*. У первичноротых гомеозисные гены также часто называют *Нох*-генами, несмотря на то что это и не вполне верно.

Хотя гомеозисные гены позвоночных являются копиями генов первичноротых, эти копии не идентичны. В результате накопления мутаций белки, кодируемые ими, выполняют различные функции. Кроме того, у разных групп позвоночных некоторые гены утрачены или дублированы (рис. 8.45).

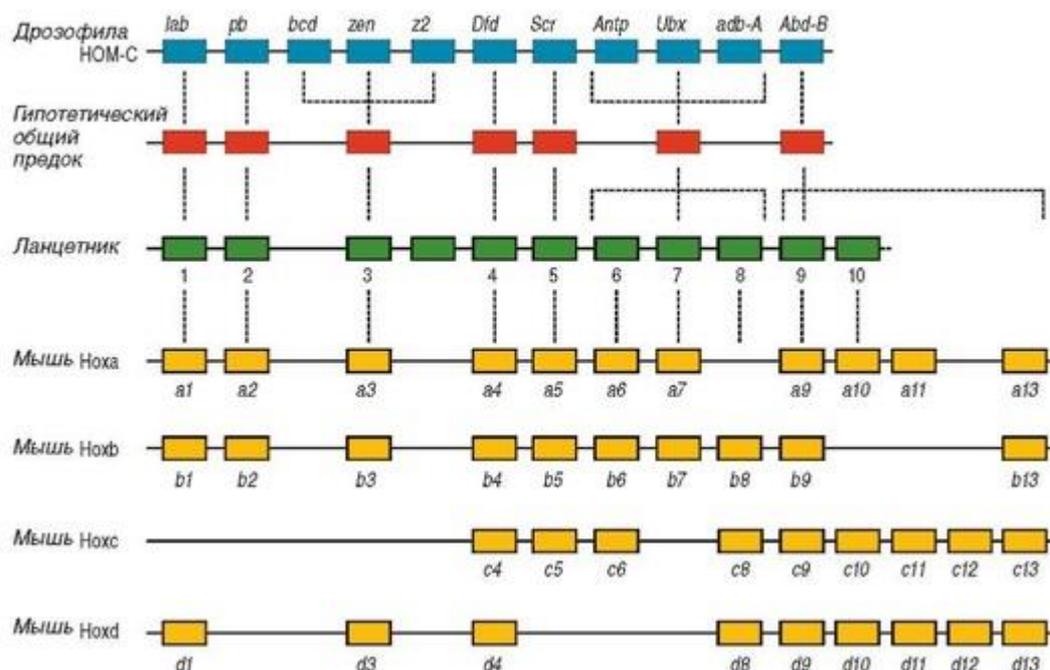


Рис. 8.45. Отличия кластеров гомеозисных генов у животных

Несмотря на изменения, накопленные в ходе эволюции в гомеозисных генах животных, принадлежащих к разным таксонам, последовательность нуклеотидов в их гомеобоксах высоко консервативна. Функциональная равнозначность кодируемых ими белков, содержащих гомеодомен, может быть доказана тем фактом, что развитие мухи с соответствующими гомеозисными генами курицы протекает нормально. Несмотря на то что общий предок курицы и мухи существовал около 670 млн лет назад, гомеозисные гены кур аналогичны таковым у мух до такой степени, что могут заменить друг друга.

У человека 39 гомеозисных генов, сгруппированных, как сказано выше, в 4 кластера (семейства) - A, B, C и D (рис. 8.46). Внутри каждого кластера наблюдаются значительные вариации в кодируемых аминокислотных последовательностях, но последовательности, кодируемые **паралогами** (т.е. генами, занимающими одно и то же положение в каждом кластере), очень похожи. Так, например, A10 более похож на C10 и D10, чем на A9 или A11. Это означает, что паралоги несут очень похожие, но не обязательно идентичные функции.

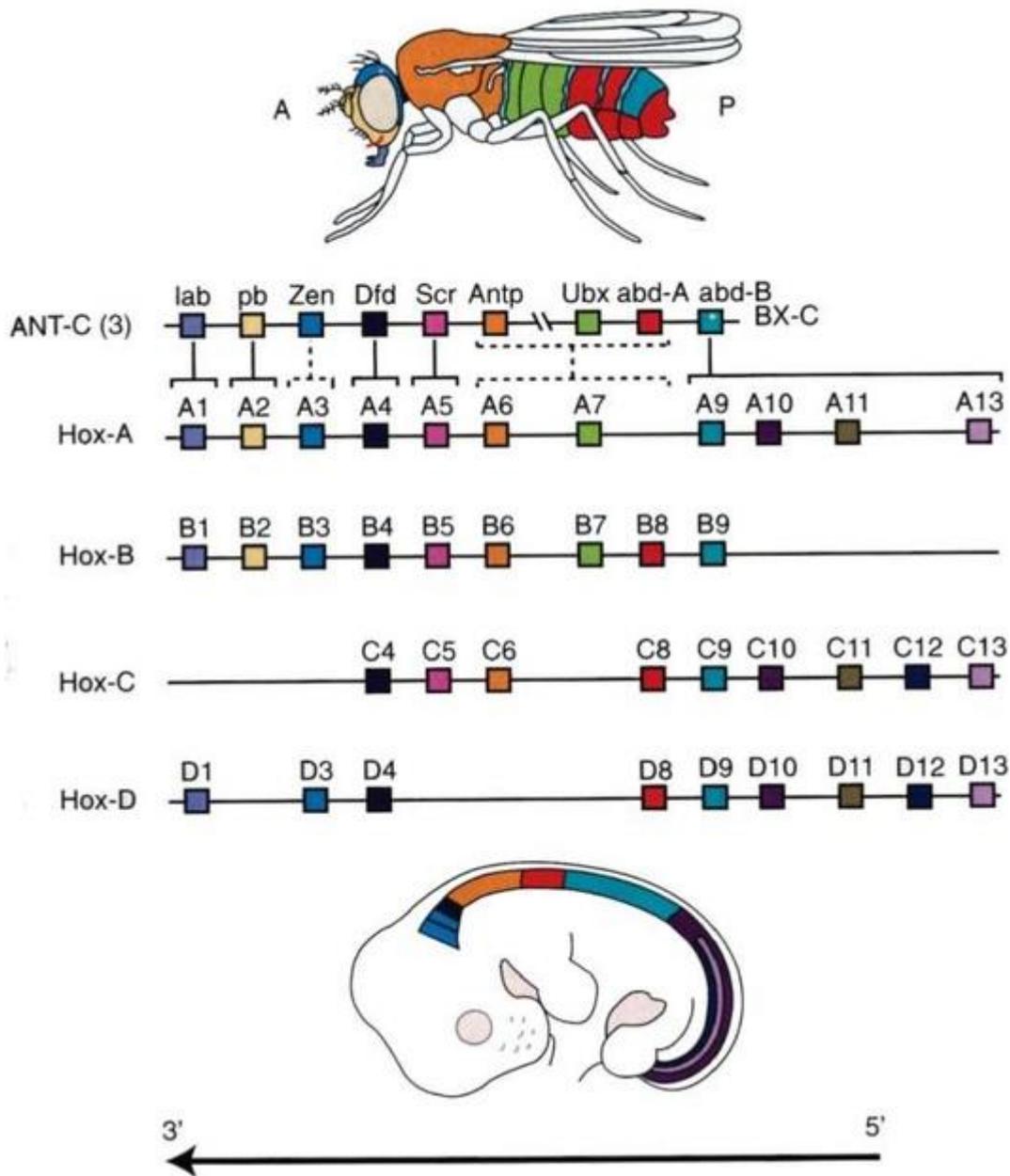


Рис. 8.46. Экспрессия гомеозисных генов в эмбриональном развитии дрозофилы и человека

Было бы ошибкой думать, что определенный *Hox*-ген, связываясь с регуляторными последовательностями 10-20 других генов, включает их или выключает. В реальности этот ген в разных частях эмбриона может транскрибироваться с различными скоростями, благодаря альтернативному сплайсингу он может кодировать целое семейство белков. Белки-продукты этого гена взаимодействуют с несколькими другими транскрипционными факторами и совместно регулируют экспрессию конкретного гена-мишени. Вследствие этого общий эффект продуктов данного *Hox*-гена может варьировать в широких пределах.

Гомеозисные гены интересны еще и тем, что наблюдается отчетливая (хотя и не абсолютная) корреляция между их положением вдоль хромосомы (от 3' к 5' концу цепи ДНК) и их экспрессией от переднего к заднему концу тела зародыша: гены, расположенные ближе к 3'-концу цепи ДНК, экспрессируются ближе к переднему концу тела (см. рис. 8.46). Эта закономерность, названная **коллинеарностью**, прослеживается у многих представителей животного мира от пресноводной гидры до млекопитающих. Она указывает на общность эволюционного происхождения передне-задней оси у всех представителей животного царства.

Источник KingMed.info

Исследования по расшифровке геномов разных животных, выполненные в течение последних лет, показали, что упорядоченность расположения Нох-генов в хромосомах отнюдь не является общим признаком. Выяснилось, что, например, у иглокожих первые три Нох-гена находятся прямо перед последним четырнадцатым, а начинается кластер с пятого гена. У нематод и оболочников Нох-гены вообще не образуют кластеров, и последовательность их расположения в хромосомах не соблюдается вовсе. Это свидетельствует о том, что в ряде случаев порядок экспрессии Нох-генов в различных частях эмбриона не соответствует порядку расположения этих генов в хромосоме. Таким образом, можно сделать вывод, что последовательность включения Нох-генов зависит, помимо их места на хромосоме, еще от каких-то дополнительных факторов.

Установлено также, что Нох-гены не экспрессируются строго один за другим в прилежащих участках тела. Часто отмечается транскрипция сразу с нескольких Нох-генов в одном и том же участке зародыша - перекрывание экспрессии, и при этом в задних районах Нох-гены более активны, чем в передних (рис. 8.47).

Стали известны некоторые детали регуляции самих Нох-генов. Между этими генами расположены участки ДНК, прежде считавшиеся бессмысленными. Как оказалось, они кодируют короткие молекулы ре-гуляторных РНК - микроРНК. Некоторые из них усиливают или ослабляют экспрессию Нох-генов, другие косвенно влияют на работу иных транскрипционных факторов. В экспериментах показано, что эти микроРНК могут регулировать как соседний, так и отдаленные Нох-гены.

Выявлено также, что у многих животных, включая человека, большинство мРНК Нох-генов предсинтезированы уже в созревающей яйцеклетке и предимплантационных зародышах. Преформированный набор мРНК многих Нох-генов сохраняется в зародыше до начала гастрюляции и нейруляции. Предобразованные мРНК у млекопитающих выявлены на стадии регионализации нервной пластинки. Таким образом, показано, что в онтогенетическом развитии Нох-гены, как и ряд других генов, **функционируют с опережением.**

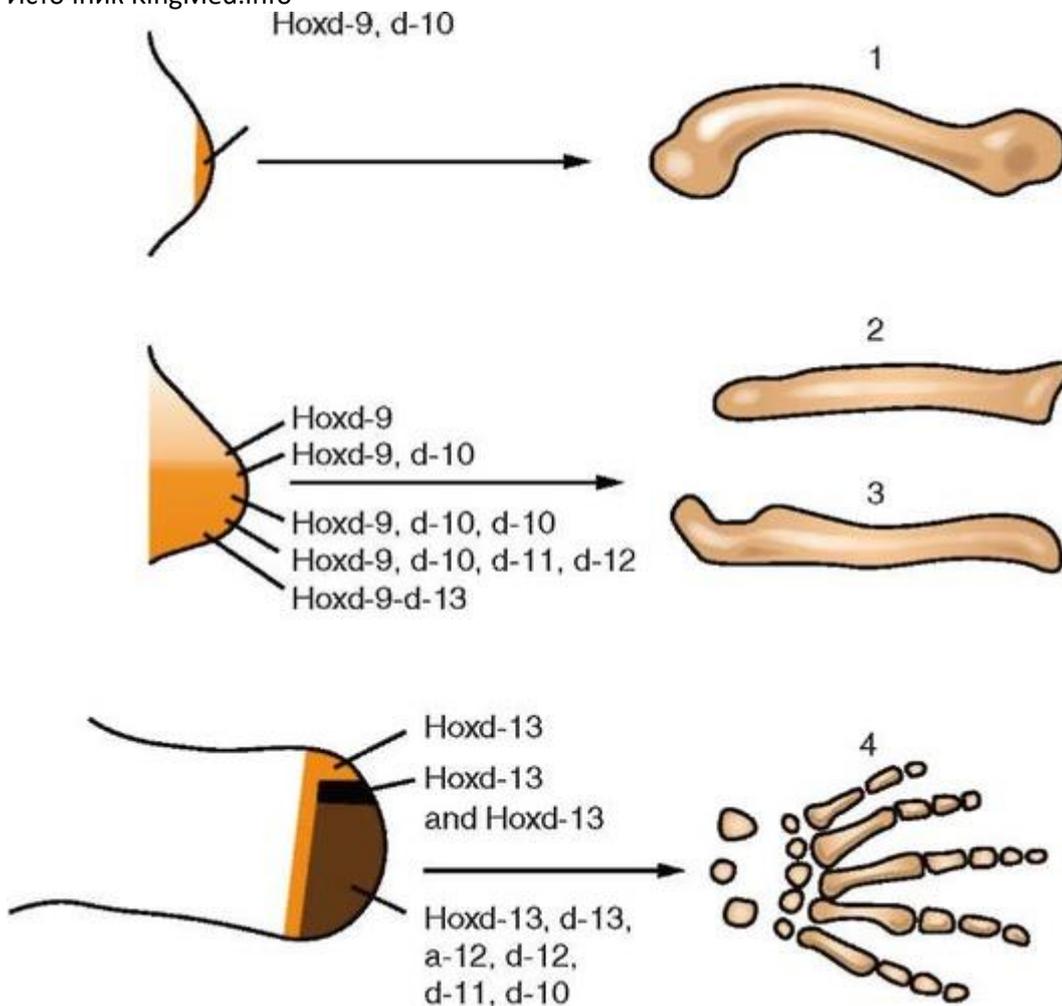


Рис. 8.47. Активность *Нох*-генов при формировании отделов конечности: А-В - последовательные стадии развития конечности; 1 - плечевая кость, 2 - лучевая кость; 3 - локтевая кость; 4 - пястные кости и пальцы

Кодируемые *Нох*-генами белки, подобно многим другим транскрипционным факторам, участвуют в регуляции не только раннего развития, но функционируют также и на более поздних его этапах в клетках ряда органов и тканей.

Так, было установлено, что появление определенных белков кластера *НохС* в нервных клетках спинного мозга направляет их дифференцировку в соответствии с функциями конкретного участка мозга. При анализе места и времени появления каждого белка из кластера *НохС* в отдельных двигательных нейронах было выполнено подробное картирование локализации этих нервных клеток в передних рогах спинного мозга. В результате оказалось, что внутри каждого фрагмента, обеспечивающего иннервацию отдельной части организма, например конечности, имеется по крайней мере 50 различных типов нейронов. Для каждого типа выявлена четкая схема экспрессии *Нох*-генов, в соответствии с которой осуществляется дифференцировка двигательных нейронов и их соединение с иннервируемыми мышцами. Первоначально экспрессия генов кластера *НохС* приводит к подразделению групп нейронов по участкам позвоночного столба, затем определяется, с какими мышцами - на внешней или на внутренней стороне конечности - будут связаны эти группы, и, наконец, выделяются популяции нервных клеток, связанные с конкретными мышцами. Эти результаты получили подтверждение в экспериментах с изменением схемы экспрессии *Нох*-генов в нейронах спинного мозга, что

Источник KingMed.info

привело к образованию нервных клеток другого типа, которые стали связываться с другими мышцами.

Стабильность дифференцированного состояния - краеугольный камень развития. Установленное на ранних этапах, оно должно сохраняться на протяжении всего онтогенеза. В поддержании достигнутого благодаря экспрессии гомеозисных генов дифференцированного состояния клеток участвуют два генных комплекса: *Polycom* и *Trithorax*. Впервые они были обнаружены у дрозофилы. Исследования показали, что эти генные комплексы сохраняют сформированный рисунок экспрессии гомеозисных генов, локально изменяя конформацию хроматина. Белки генов группы *Polycom* подавляют экспрессию, а продукты генов *Trithorax*, напротив, сохраняют активность транскрипции гомеозисных генов. К настоящему времени установлено, что эта система регуляции активности гомеозисных генов очень консервативна в процессе эволюции. Для всех генов комплексов *Polycom* и *Trithorax* дрозофилы существуют гомологичные гены у млекопитающих. Более того, найдены и сходные регуляторные элементы, взаимодействуя с которыми белки, кодируемые этими комплексами, предотвращают изменения транскрипционной программы, характерной для конкретного типа клеток. Предполагается, что эта система регулирует активность и многих других генов, помимо гомеозисных, что свидетельствует о фундаментальности данного онтогенетического механизма.

Установление роли гомеозисных генов в развитии - крайне непростая задача. Очевидно, что любая их мутация, которая существенно влияет на функцию ключевых в раннем эмбриогенезе транскрипционных факторов, будет летальной, и, вероятнее всего, эмбрион погибнет вскоре после оплодотворения. Это делает практически невозможным обнаружение такой мутации. Поэтому вниманию генетиков доступны лишь те из них, которые затрагивают более поздние стадии эмбриогенеза и имеют относительно умеренное влияние на развитие. У человека идентифицированы лишь немногие изменения в этих генах. Показано, что мутации гена *Hoxd13* могут вызывать синполидактилию (наличие более пяти сросшихся пальцев, рис. 8.48), гена *Hoxa13* - приводят к формированию синдрома кисть-стопа-гениталии (аномальные большие пальцы, небольшие ступни, удвоение женских половых органов).



Рис. 8.48. Синполидактилия

Источник KingMed.info

Мутации или делеции генов *Hoxd3*, *Hoxb4*, *Hoxd9*, *Hoxd11* проявляются тяжелыми аномалиям скелета. Парная делеция генов *Hoxa2* и *Hoxa3* вызывает дефекты развития костно-мышечной системы лица, шеи, аномалии развития тимуса, щитовидной железы.

Другая группа транскрипционных факторов, важных для раннего развития, - белки семейства *Pax*. Гены, их кодирующие, также принадлежат к семейству гомеобоксодержащих. Эти белки действуют как регуляторы органогенеза, а кроме того, необходимы для поддержания плюрипотентности (мультипотентности) популяций стволовых клеток, т.е. их способности дифференцироваться во множество специализированных типов клеток. Особенность белков *Pax* - наличие последовательности, состоящей из 128 аминокислотных остатков, которая образует два района для связывания с ДНК («paired box» - *Pax*). Считают, что эти белки связываются с энхансерными последовательностями ДНК и модифицируют таким образом транскрипционную активность ряда «подчиненных» генов. У человека, и вообще у млекопитающих, имеется девять генов *Pax*.

Гены *Pax1* и *Pax9* экспрессируются при развитии позвоночного столба, зачатков конечностей и тимуса, где они демонстрируют перекрывающиеся рисунки экспрессии. У мышей мутации в генах *Pax1* и *Pax9* вызывают дефекты скелета, а мутации в *Pax9* могут также приводить к отсутствию тимуса и паращитовидной железы. У человека мутации гена *Pax9* вызывают олигодонтию - неразвитие шести и более постоянных зубов.

Ген *Pax3* экспрессируется у млекопитающих в дорзальной части нервной трубки - области, в которой формируются мигрирующие клетки нервного гребня. Мутации данного гена приводят к нарушению развития этих клеток и появлению у человека болезни Гиршпрунга (отсутствие нервных клеток в мышечном и подслизистом сплетениях толстой кишки и нарушение вследствие этого ее перистальтики) и синдрома Ва-арденбурга (глухота, частичный альбинизм и другие нарушения). Совместная экспрессия генов *Pax3* и *Pax7* отмечается в предшественниках мышечных клеток, что необходимо для их дифференцировки в клетки (волокна) скелетных мышц.

Функция гена *Pax6* является ключевой в развитии глаз и носа. У людей, гетерозиготных по мутации этого гена, может наблюдаться аниридия (отсутствие радужной оболочки глаза) и катаракта (помутнение хрусталика).

Полагают, что транскрипционный фактор, кодируемый геном *Pax2*, участвует в процессе дифференцировки клеток почек. Белок гена *Pax5* известен как специфический транскрипционный фактор В-лимфоцитов. Считают, что его синтез необходим в ходе нейрогенеза, сперматогенеза и дифференцировки В-лимфоцитов.

Как и гомеозисные гены, гены, сходные с *Pax*, также обнаруживаются в геномах животных разных таксонов. Так, ген дрозофилы *eyeless* близок к гену *Pax6* млекопитающих и участвует в регуляции развития глаз. Замена гена *eyeless* у дрозофилы соответствующим мышинным геном приводит к формированию у мухи нормального глаза, что указывает на консервативность структуры этих генов. Важным результатом данного эксперимента является тот факт, что при инициации геном мыши развивается глаз, характерный для дрозофилы. Это свидетельствует о том, что гены *Pax6* и *eyeless* лишь «запускают» программу формирования структуры, в реализации которой участвуют многие другие гены организма, которые и определяют, какой конкретно глаз будет сформирован. По расчетам, в процессе формирования глаз у животных принимает участие примерно 2500 генов, действующих каскадно. Более того, активируя ген *eyeless* в необычном месте в организме дрозофилы, получали развитие глаза на брюхе, на лапках, на крыле и в любом другом месте (рис. 8.49).



Рис. 8.49. Формирование глаза дрозофилы в атипичных местах под действием гена *eyeless*: 1 - на лапе; 2 - на антенне

Таким образом, выявляется некоторая **общая закономерность** генетической регуляции индивидуального развития. Оно во многом определяется **иерархией генов**, кодирующих транскрипционные факторы. Эти белки, иницируя одну стадию развития, влекут за собой активацию других генов и синтез новых транскрипционных факторов, которые регулируют следующую стадию, активируя очередную группу генов, но оказывая при этом регулирующее влияние и на предыдущие. В результате формирование конкретных структур управляется целыми **генными сетями**. Ключевые гены, иницирующие специфическую программу развития определенной структуры или органа, т.е. активирующие конкретную генную сеть (сетевой принцип генетической регуляции), образно названы «**гены-господа**» или «**мастер-гены**», а запускаемые ими структурные гены-мишени, образующие каскад, - «**гены-рабы**».

Примерами скоординированной экспрессии генов, приводящей к формированию той или иной морфологически сложной структуры, могут служить программа развития поджелудочной железы, запускаемая геном *pdf-1*, развития селезенки благодаря активации гена *Hox11*, развития сердца, иницируемая геном *Crypto*. Известны «гены-господа» и для формирования отдельных зародышевых листков. Так, мутация гена *casanova* блокирует развитие энтодермы, а генов *Brachyury* и *zeta-globin* - мезодермы. Наконец, считают, что и специализированные ткани, и типы клеток формируются по «разрешающему сигналу» соответствующих ключевых генов. Таким геном, например, для созревания альвеолярного эпителия является *Wn17*.

Весьма интересный пример генетического контроля развития - функционирование сложного гена Т-локуса у мышей (см. п. 4.3.3.2). Он представлен 117 аллелями, большинство из которых рецессивны и обозначаются буквой *t* с дополнительными индексами. Весь ряд рецессивных аллелей *t* разделяется на восемь групп, которые могут быть комплементарны друг другу, т.е. гетерозиготные зародыши, в генотипе которых находятся аллели *t* из разных групп, не погибают. В гомозиготном состоянии аллели каждой из восьми групп обуславливают разного рода дефекты (рис. 8.50). Первичное нарушение, лежащее в основе всех эффектов, всего лишь одного локуса пока не выяснено. Однако очевидно, что локус *T* играет первостепенную роль на самых ранних стадиях развития и в морфогенезе эктодермы мышиноного зародыша, и организма в целом. Известны также пять доминантных мутаций Т-локуса. Один из таких доминантных аллелей - *Brachyury*, о котором было сказано выше.



Рис. 8.50. Аллели локуса *T* мыши, блокирующие развитие производных эктодермы на различных стадиях

Таким образом, генетический контроль онтогенеза очевиден. Многочисленные исследования последних лет добавили многое для его понимания, но до формирования целостного представления еще очень далеко. Однако уже сейчас ученые пришли к выводу о существовании ряда универсальных закономерностей генетической регуляции индивидуального развития. Они обсуждались в данном разделе. Одна из них - «опережающее» функционирование генов в ходе онтогенеза. Как отмечалось, многие продукты синтезируются в развивающемся зародыше заранее, задолго до того, как они будут востребованы. Это, в частности, вещества, которые участвуют в разметке плана строения организма (продукты генов сегментации, гомеостатических генов), в осуществлении эмбриональной индукции (индуцирующие вещества и их ингибиторы). Другая закономерность - существование генных сетей в развитии органов или структур - каскадов структурных генов, часто иницируемых активацией одного ключевого гена и организованных по иерархическому принципу. Другими словами, основу индивидуального развития составляет взаимодействие генов, их системное, а не автономное функционирование (см. независимое наследование признаков Г. Менделя - менделизм классической генетики, сальтаторный характер генных мутаций, феномен ге-нокопирования в практике медико-генетического консультирования).

8.2.10.2. Средовой контроль развития

Средовые факторы оказывают значительное влияние на процессы развития. В эмбриогенезе млекопитающих выделяют три группы таких факторов (см. п. 4.3.1.1). Во-первых, это среда самого развивающегося организма, во-вторых, - среда материнского организма и, наконец, внешняя среда в обычном ее понимании (внеорганизменная среда).

Приведем примеры влияния каждой группы. Воздействие среды самого развивающегося зародыша можно наблюдать при дифференциации глазного пузыря. В его стенке, прилегающей к покровному эпителию, затруднено снабжение тканей кислородом и происходит накопление продуктов метаболизма. Именно это и определяет его преобразование в сетчатку. В стенке пузыря, обращенной к мозгу, продукты жизнедеятельности активно удаляются, и кислород имеет свободный доступ к ткани, обеспечивая ее дифференциацию в пигментную оболочку.

Источник KingMed.info

Изменение гормонального статуса развивающегося организма также влияет на ход эмбриогенеза. При сравнении трех линий мышей, отличающихся по уровню гормона коры надпочечников - кортизола, было выявлено его воздействие на темпы роста небных отростков верхней челюсти и, таким образом, на формирование твердого неба. У одной из линий несращение твердого неба наблюдалось в 100% случаев, у второй - в 17% случаев. У гибридной линии, имеющей промежуточные показатели уровня кортизола, с расщелиной твердого неба рождалось 40% мышат.

Вторая группа средовых факторов, влияющих на организм на протяжении всего периода эмбрионального развития, отражает состояние материнского организма. Так, недостаток витаминов группы В у матери может быть причиной дефектов в строении печени и сердца плода, витамина С - дефектов нервной системы. Заболевание матери краснухой в начале беременности приводит к возникновению пороков сердца, органов зрения и слуха, нарушению сращения верхнечелюстных и небных костей. В случае недостаточности у матери функции щитовидной железы происходит гипертрофия (чрезмерное увеличение) ее у эмбриона, что ведет к нарушению деятельности этой железы у ребенка в постнатальном онтогенезе.

Следующий пример характеризует влияние последней из указанных групп - факторов внеорганизменной среды. К подобным воздействиям может быть отнесен, например, недостаток кислорода во вдыхаемом воздухе в условиях высокогорья. В этом случае развивающийся организм не получает достаточно кислорода для осуществления метаболических процессов (гипоксия), следствием чего могут быть тяжелые поражения головного мозга, а в некоторых случаях и гибель.

Таким образом, совершенно очевидно существование генетического и средового контроля развития, однако результат онтогенеза особи зависит не только от влияния этих факторов, но и от действия системных интегрирующих механизмов развития и способности к эмбриональной регуляции, присущей самому зародышу.

8.3. целостность онтогенеза

Как только в результате дробления образуются два первых бласто-мера, каждый из них становится неразрывной частью новой биологической системы, и его поведение определяется этой системой. На любой стадии развития зародыш представляет собой интегрированное целое, а не сумму бластомеров (клеток). Интеграция развивающихся зародышей непрерывно меняется по мере развития. Основные механизмы интеграции - межклеточные и межзачатковые взаимодействия, а также гуморальная и нервная регуляция.

Различия в уровне интеграции, в характере взаимодействия клеток у разных видов животных могут быть очень существенными. Кроме того, иногда на более ранних стадиях развития зародыш более интегрирован, чем на более поздних. Так, личинки асцидий, вероятно, более интегрированы, чем взрослые формы. То же наблюдается, по-видимому, у многих моллюсков и червей. У позвоночных животных интегрированность нарастает по мере углубления процессов органогенеза и цитодифференцировки.

8.3.1. ДЕТЕРМИНАЦИЯ В ХОДЕ РАЗВИТИЯ

Дифференцировке клеток, приобретению ими морфологических и функциональных отличий предшествует **детерминация** (от лат. *determinatio* - ограничение, определение) - предопределение судьбы клеток, которое осуществляется благодаря возникновению качественных различий между ними. Под детерминацией подразумевается предназначение клеток к тому, чтобы в конечном счете дифференцироваться именно в этот, а не какой-нибудь

Источник KingMed.info

иной клеточный тип. Никаких явных структурных или функциональных изменений в клетках на этой стадии не происходит. Клеточный материал считают детерминированным, начиная со стадии, когда он впервые обнаруживает способность при пересадке в чуждое место дифференцироваться в тот тип клеток, который из него образуется при нормальном развитии. Детерминация отдельных клеток и клеточных комплексов неразрывно связана с детерминацией зачатков органов и структур организма, которая предшествует **дифференциации** частей (структур) развивающегося организма. При этом первоначально детерминируется общее - целый зачаток, а затем определяется судьба отдельных клеток. Под детерминацией частей организма также понимают возникновение качественных различий, которые предопределяют дальнейшую судьбу этих частей, прежде чем возникают морфологические различия между ними (дифференциация).

В последнее время получил распространение термин **коммитация**. По сути, он означает то же, что и детерминация. Термин «детерминация» относят преимущественно к ранним эмбриональным стадиям развития, а о коммитации говорят чаще всего применительно к отдельным клеткам, судьба которых определяется на относительно поздних стадиях развития. Так, например, говорят о коммитации различных типов клеток крови, возникших из первичной (родоначальной стволовой) кроветворной клетки.

Предшествующая процессам дифференцировки, дифференциации и морфогенеза, наблюдаемым на протяжении всего развития, детерминация также реализуется на протяжении всего онтогенеза особи. Объем детерминируемых областей с возрастом уменьшается. В раннем эмбриогенезе детерминируются области, соответствующие зародышевым листкам, затем определяется общий план строения организма зародыша. На более продвинутых фазах эмбрионального развития и даже в постэмбриональном периоде под действие этих процессов подпадают более ограниченные области - зачатки органов или отдельных структур организма.

Детерминированность элементов развивающегося организма тесно связана с понятием **потенций** развития. Потенции (**проспективные потенциалы**) - это все возможные направления развития элементов организма, которые могли бы осуществиться при определенных условиях, в том числе и отличных от нормальных. То, во что данный элемент развивается при **нормальных** условиях, называют его **проспективным** (презумтивным) **значением**. Очевидно, что проспективные потенциалы некоторой части зародыша не могут быть уже ее проспективного значения.

На каждом этапе развития элементы организма - отдельные клетки, клеточные комплексы, зачатки органов и структур характеризуются определенными потенциальными возможностями. В ходе развития организма по мере усиления детерминации происходит изменение (сужение) потенциалов его элементов. Другими словами, наблюдается **рестрикция** - ограничение возможностей выбора путей развития, предоставляемых развивающемуся элементу. Пример, иллюстрирующий рестрикцию потенциалов клеток мезодермы зародыша, представлен на рис. 8.51.

Рассмотрим, как происходит изменение потенциалов элементов развивающегося организма на примере Хордовых. Как говорилось выше, на стадии дробления в клетках зародыша первоначально синтез белков осуществляется на матрицах, запасенных в ходе овогенеза. Когда происходит активация собственных генов зародыша, экспрессируется максимальное за весь период онтогенеза количество генетического материала. Все клетки зародыша на этой стадии развития синтезируют только **общеклеточные белки** («house keeping» proteins) и проявляют **активность одних и тех же генов**. Вследствие этого (напомним, что на указанной стадии) зародыш является **однослойным**, поскольку все его клетки однородны с генетической и

биохимической точек зрения. Бластомеры в фазе дробления **эквивалентны** (равнонаследственны), т.е. все они имеют одинаковые возможности развития. Эти возможности максимальны, что определяет способность отдельного бластомера дать начало целому зародышу и, следовательно, всем типам клеток сформированного организма. Это свойство клеток получило название **тоти-(омни)потентность**. Доказательством служат опыты Дриша, который разделял бластомеры 2-, 4- и даже 8-клеточных зародышей морского ежа. Отдельные бластомеры впоследствии давали начало полноценному организму. Сходные эксперименты были предприняты и на других животных, в том числе относящихся к различным классам Хордовых. Было установлено, что у тритона тоти(омни)потентность сохраняется до стадии 16 бластомеров, у кролика - до стадии 4-8 бластомеров, у человека - 2- 4 бластомеров. Доказательством последнего утверждения является рождение у человека однойцевых близнецов (см. также полиэмбриония).



Рис. 8.51. Схема дифференцировки мезодермы (по В.В. Яглову, с упрощениями)

У большинства хордовых клетки утрачивают тоти(омни)потентность к концу дробления. На стадии бластулы и в фазе гастрюляции начинают работать **гены терминальной дифференцировки**, кодирующие **специфические** белки. Вследствие этого происходит детерминация клеток и начинаются проявления дифференцировки клеток зародыша, образующих к концу гастрюляции зародышевые листки. На этом этапе

наблюдается **рестрикция потенциалов** клеток зародыша, что подтверждают опыты по пересадке в развивающийся «неокрашенный» зародыш клеток, взятых из различных областей другого зародыша той же стадии развития и помеченных флуоресцентным красителем. Было установлено, что отдельные энтодермальные клетки до стадии средней бластулы практически тоти(омни)потентны: будучи пересаженными в соответствующую область, они могут дать все

Источник KingMed.info

другие клеточные типы, происходящие в норме как из экто-, так и из мезодермы. Например, если одну меченую энтодермальную клетку пересадить на территорию глазного зачатка, то она даст одну из клеток сетчатки глаза. Однако если отдельные энтодермальные клетки пересаживали на стадии поздней бластулы, они сохраняли потенции к формированию мезодермальных клеток, но утрачивали потенции к образованию эктодермальных. Наконец, к стадии ранней гаструлы они сохраняли потенции только к образованию эн-тодермальных производных. В целом к концу гаструляции возможности дифференцировки клеток зародыша ограничиваются компетенциями конкретных зародышевых листков.

Однако круг возможных направлений развития клеток все еще довольно широк, клетки **мульти(плюри)потентны**. Благодаря этому клетки на стадии ранней гаструлы оказываются способны при определенных условиях к **трансдетерминации** - смене направления развития, переопределению своей судьбы. В этом случае говорят о состоянии **лабильной** детерминации. В ходе последующего развития лабильная детерминация сменяется **стабильной**, которая необратимо и прогрессивно сужает круг возможных направлений развития данного элемента организма. В ходе гисто- и органогенеза наблюдается дальнейшее ограничение возможных путей развития элементов зародыша, вплоть до момента, когда сохраняется лишь единственный путь специализации - подобное состояние определяется как **унипотентность**. Процесс прогрессивного ограничения потенций в ходе онтогенеза получил название **канализация развития** (рис. 8.52).

Из вышесказанного следует вывод, что детерминация элементов развивающегося организма - это процесс, пользуясь языком эмбриологов и биологов, развития, ограничения **проспективных потенций** до **проспективных значений**.

Как уже указывалось, детерминация идет **от общего к частному**: сначала детерминируется судьба целого зачатка развивающегося организма, а в дальнейшем определяется судьба клеток его конкретных (частей) элементов. Именно поэтому трансдетерминация на более ранних



Рис. 8.52. Изменение потенций элементов зародыша в процессе развития

фазах развития возможна в более крупных масштабах, а в ходе дальнейших преобразований - во все более ограниченных. На стадии ранней гаструлы детерминируется судьба клеток целого зародышевого листка. Так, проспективные потенции любой клетки эктодермы обеспечивают

Источник KingMed.info

возможность каждой из них войти в состав любого производного данного зародышевого листка: нейральных структур, эпителиальных структур кожи и начальных и конечных отделов кишечной трубки, элементов органов чувств и т.д. На стадии ранней гаструлы пересадка клеток презумптивной нервной пластинки в область будущего эпидермиса живота приводила к тому, что они становились эпидермальными и наоборот, пересадка любого участка презумптивного эпидермиса в область будущей нервной пластинки вызывала его превращение в нервную ткань. На стадии поздней гаструлы клетки оказываются уже жестко детерминированными к образованию только конкретных структур, например клетки нейроэктодермы уже не способны к образованию эпителиальных структур кожи, передней и задней кишки. Они участвуют в формировании элементов центральной и периферической нервной системы, дают начало некоторым костям черепа, пигментным клеткам кожи, элементам органов чувств и др. В дальнейшем потенции определенных групп клеток нейроэктодермы еще более ограничиваются, причем каждая клеточная популяция характеризуется своим направлением развития. Однако и в пределах ограниченных клеточных групп, если их потенции еще не уникальны, возможны явления трансдетерминации, конечно, в более узких масштабах, чем на более ранних фазах развития. В частности, в ходе органогенеза выпячивание переднего мозга формирует глазной пузырь, из которого образуется глазной бокал, представляющий собой двустенную чашу. При формировании последнего внутренняя стенка сжимается и образует сетчатку, а внешняя растягивается и формирует пигментный эпителий. Но эти участки эквивалентны - равнонаследственны. Если воздействия поменять, то и дифференцировка поменяется, т.е. довольно длительное время они могут превращаться друг в друга, что и было доказано в экспериментах на амфибиях.

Практически у всех животных в раннем развитии можно найти такую стадию, когда проспективные потенции частей шире их проспективных значений. Отличие состоит в том, в какой момент детерминация становится необратимой. У животных с **регуляционным** типом развития тотипотенциальность и мультипотенциальность сохраняется довольно длительное время, что делает возможным трансдетерминацию. Потенции эмбриональных клеток при **мозаичном** типе развития существенно сужаются уже в период дробления, иногда в самом его начале. В этом случае клетки быстро теряют тотипотентность и зародыш представляет собой как бы мозаику самодифференцирующихся частей.

Считают, что одним из **механизмов детерминации** является **избирательная трансляция мРНК** в клетках. Как отмечалось в п. 8.2.5.2, предсинтезированные мРНК для многих белков запасаются в виде информосом. Их трансляция начинается на более поздних стадиях развития, при этом часть из них подвергается деградации и в трансляции не участвует. Потенции клетки зависят от набора мРНК в ней, определяющих возможные пути дифференцировки. Эмбриональная детерминация наступает тогда, когда происходит синтез белка на одних матрицах из этого (существующего) набора и разрушение других. В целом, в зародышах транскрипция генов, отвечающих за последующие этапы дифференцировки, происходит в более широкой области (в большем числе клеток), чем последующая трансляция.

Другим механизмом может служить **непосредственная активация** или **блокирование генов**. Так, в опытах с использованием эмбриональных стволовых клеток было показано, что одним из генов, обуславливающим тотипотентность является *oct-4*. Он экспрессируется в зрелых ооцитах и в делящихся эмбрионах до стадии морулы. Специализация клеток бластоцисты - формирование трофобласта - приводит к исчезновению экспрессии *OCT-4* в клетках последнего, тогда как в клетках внутренней клеточной массы экспрессия гена сохраняется. К 7-й неделе развития экспрессия *OCT-4* определяется только в первичных половых клетках. В

Источник KingMed.info

экспериментах на стволовых клетках установлено, что активация генов, обеспечивающих образование зародышевых листков, сопровождается прекращением экспрессии всех генов, контролирующей тотипотентность. Выяснено также, что существует антагонизм развития зародышевых листков. Например, главные индукторы гаструляции и мезодермы *Nodal*, *Cripto*, *TGFβ* являются сильнейшими блокаторами образования нейроэктодермы. Лишняя доза гена *FoxA2* вызывает избыточное развитие эндодермы за счет мезодермы. Выключение гена-регулятора эктодермы *EED* приводит к перепродукции мезодермы за счет эктодермы зародыша.

В целом, детерминация тесно связана со свойствами развивающегося организма как интегрированной системы, которая включает взаимосвязанные и взаимозависимые части. Главное в понятии детерминации - проблема соотношения **целостности** организма и **автономности**, или способности его частей к самодифференцировке.

8.3.2. ЭМБРИОНАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ

В условиях нормального развития преобразования отдельных элементов и организма в целом строго согласованы по месту, объему и срокам. Однако даже при различных естественных или искусственных нарушениях процесса развития зародыша возможно восстановление нормального его хода. Это явление, получившее название **эмбриональная регуляция**, открыто в 1908 г. Г. Дришем.

Возможность эмбриональной регуляции определяется наличием в ходе развития периода, когда клетки зародыша тотипотентны или мульти(плюри)потентны и вследствие этого перспективные потенции элементов (частей) зародыша шире, чем их перспективная судьба. Важно заметить, что в этом периоде в зародыше имеются эквипотенциальные области, имеющие одинаковые возможности развития. На данном онтогенетическом отрезке развивающиеся элементы (части) зародыша обладают слабой компетенцией (способностью к выбору пути развития при определенных внешних воздействиях), а их детерминация лабильна, то есть не носит окончательного необратимого характера. Поэтому возможно изменить судьбу элемента (части) зародыша в результате изменения условий его (ее) развития, другими словами, возможна его трансдетерминация. Путь дальнейшего развития элемента (части) зародыша во многом зависит от его положения в зародыше и оказываемых на него (нее) воздействий. Именно благодаря всему перечисленному и возможно восстановление нормальной, геометрически правильной (результат морфогенеза) и полной структуры организма, несмотря на удаление, добавление и перемешивание части материала зародыша, что было продемонстрировано многочисленными экспериментами по нарушению развития на стадиях зиготы, дробления, гаструляции, органогенеза. Например, исследователи объединяли диссоциированные клетки двух отличающихся по генам окраски шерсти мышинных зародышей, находящихся на стадии морулы. Образовавшуюся в результате объединения бластоцисту имплантировали в матку мыши (приемной матери). В итоге развивались нормальные мышата-химеры (аллофенные мыши), в окраске которых проявилось действие генов обоих «родителей» (рис. 8.53).

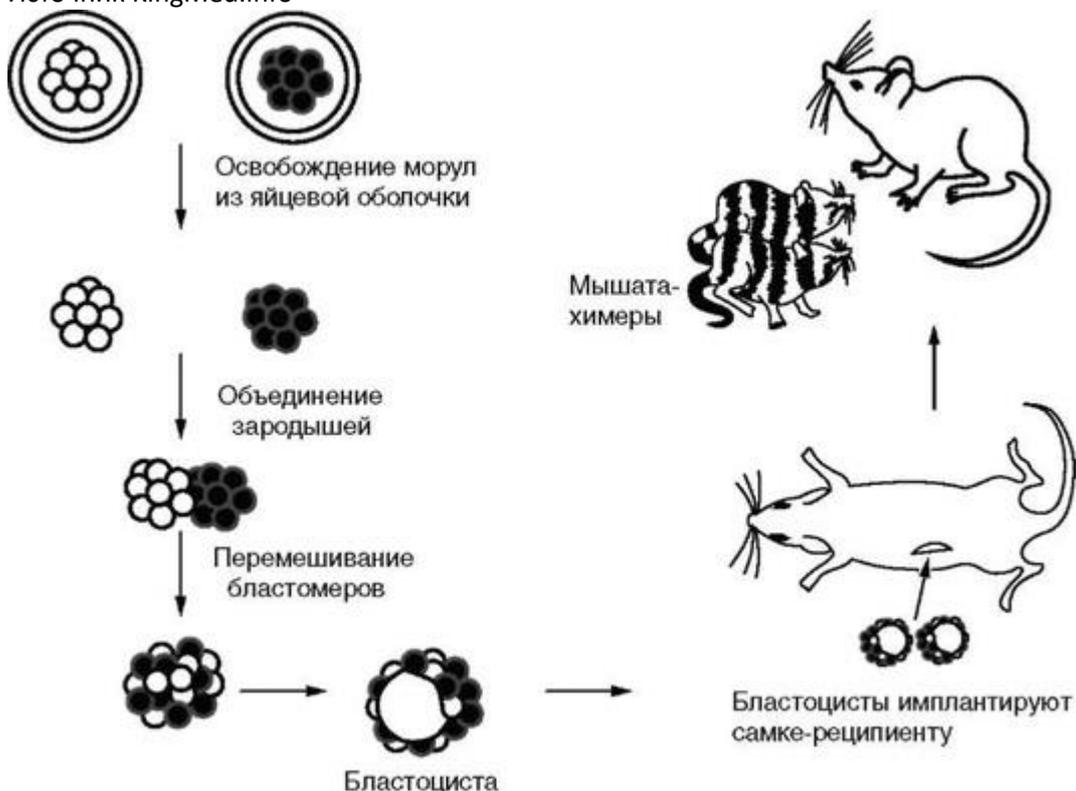


Рис. 8.53. Схема эксперимента по получению химерных мышей

Восстановление нормального хода онтогенеза возможно даже при нарушении ово(оо)плазматической сегрегации яйцеклетки. Так, сильное центрифугирование яиц моллюсков, морского ежа, амфибий, приводящее к полному нарушению расположения в них (их цитоплазме) желтка и других компонентов, не изменяет характера развития. Аналогичные результаты получены и в ходе экспериментов по изъятию части цитоплазмы яйцеклетки или объединению цитоплазмы нескольких яйцеклеток. В этих случаях происходило формирование нормального зародыша, имевшего соответственно меньший или больший, чем обычно, размер.

Способность к эмбриональной регуляции гораздо ярче выражена у организмов с регуляционным типом онтогенеза (иглокожие, хордовые), у которых на ранних этапах развития ведущим является механизм межклеточных и межзачатковых взаимодействий. Полагают, что в ходе эволюции хордовых произошло расширение областей и удлинение сроков компетенции, что также является важным фактором, определяющим возможность эмбриональной регуляции. Иллюстрацией этого может служить формирование глаза не в надлежащем месте при перемещении индуктора (рис. 8.54). В отношении млекопитающих было высказано предположение, что их развитие целиком базируется на механизмах взаимодействия клеток и структур зародыша и преддетерминированные участки цитоплазмы не играют никакой (существенной) роли.

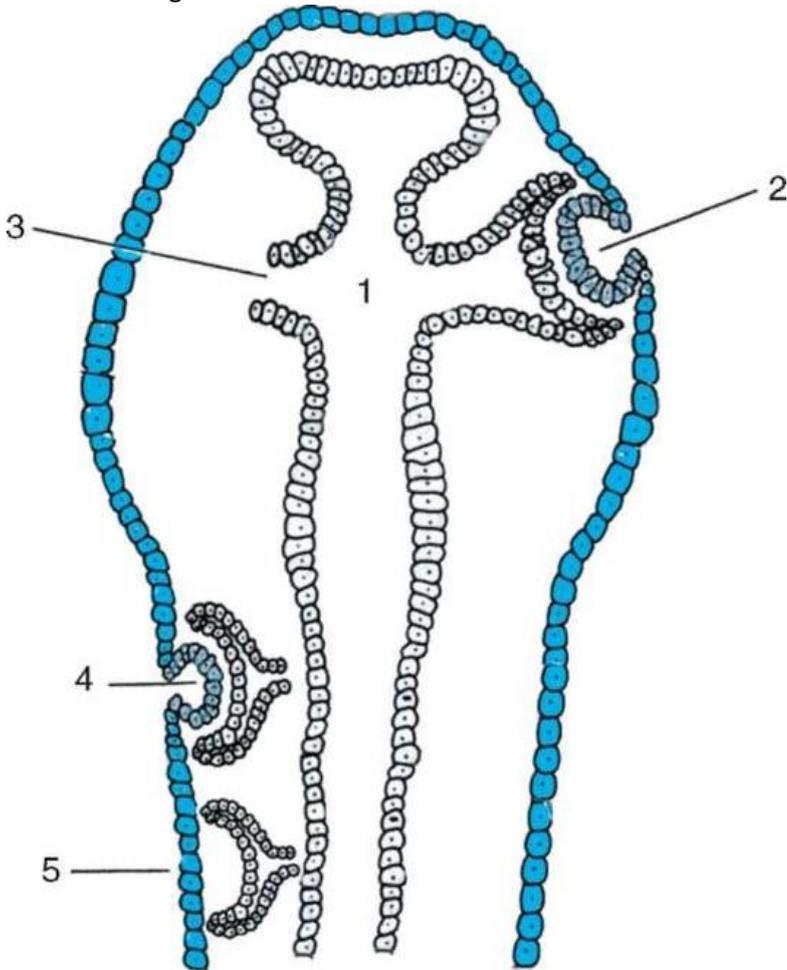


Рис. 8.54. Эмбриональная регуляция при формировании глаза: 1 - мозг; 2 - нормальное развитие; 3 - глаз не формируется при отсутствии индуктора; 4 - атипичное расположение глаза при перемещении индуктора; 5 - глаз не формируется, т.к. отсутствует компетентность ткани

Возможность эмбриональной регуляции существует и у зародышей с ярко выраженным мозаичным развитием, несмотря на раннюю и необратимую детерминацию клеток и структур развивающегося организма. Так, у одного из видов коловраток тело взрослой особи содержит точно определенное число клеток - 959, из них 301 - клетки кожи, 165 образуют глотку, 19 - половой аппарат, 122 - мускулатуру, 247 - нервную систему, 24 - выделительную систему. Формирование практически каждой клетки взрослого организма жестко и необратимо детерминировано цитоплазматической сегрегацией специфических факторов уже во время первого деления дробления. Однако изолированный единственный бластомер с половым зачатком может образовывать целый зародыш, т.е. он обладает тотипотентностью. Кроме того, у такого зародыша с жестко детерминированными клетками сохраняется ограниченная возможность переопределения клеточной судьбы (клеточных судеб) вследствие индуктивных межклеточных взаимодействий.

Важное следствие регуляционных процессов - **эквивифинальность развития**, т.е. достижение нормального (требуемого) конечного результата разными путями. Например, после диссоциации и перемешивания бластомеров морского ежа формировались нормальные личинки, однако образование структур происходило иными путями: кишечник формировался не путем инвагинации, а вследствие расхождения клеток из плотной массы - шизоцельно, скелет возникал раньше, чем покровы.

Источник KingMed.info

Эмбриональная регуляция - признак эволюционного прогресса, так как она обеспечивает возможность получения нормального (требуемого) конечного результата развития даже при его нарушениях, а также определяет резерв изменчивости, который может стать источником эволюционных преобразований. В ходе онтогенеза способность (возможность) к эмбриональной регуляции падает (снижается), но не исчезает совсем, так как известно, что у взрослого организма существует, например, способность к регенерации.

8.3.3. МОРФОГЕНЕЗ

Морфогенез - процесс образования структур и органов и преобразования их формы в процессе индивидуального развития организмов. Это, несомненно, самый сложный и упорядоченный природный процесс.

В классической эмбриологии под морфогенезом обычно понимают возникновение многоклеточных структур. У хордовых животных первые видимые морфогенетические события - закладка осевых органов - отмечаются в ходе нейруляции. Однако следует помнить, что индукционные взаимодействия групп клеток (зачатков), определяющие начальные этапы морфогенеза, осуществляются еще на стадии бластулы и ранней гаструлы (см. п. 8.2.8). Таким образом, правомерно считать, что морфогенез на надклеточном уровне начинается со стадии бластулы. В период гаструляции, как и во время нейруляции, перестройки охватывают весь зародыш. Следующие затем органогенезы представляют собой все более локальные процессы. Внутри зачатка каждого из формирующихся органов происходит дальнейшая последовательная дифференциация.

Параллельно с образованием многоклеточных структур формируются субклеточные и клеточные элементы. Происходят сложные цитодифференцировки, которые осуществляются путем координированной активности многих внутриклеточных образований - мембраны, микротрубочек и центров их организации, аппарата Гольджи и ряда других. Так, дифференцировка всасывающих клеток эпителия почек и кишечника связана со сборкой мощных пучков актиновых микрофиламентов, образующих структурную основу микроворсинок, размеры и строение которых характеризуются высокой точностью (определенностью). Помимо этого происходит перестройка клеточных мембран, определяющая их будущие функциональные свойства. Эти процессы, в свою очередь, сопровождаются синтезом и пространственной организацией макромолекул, в частности, образованием и встраиванием в плазмалемму белковых комплексов, обеспечивающих различные виды транспорта веществ. Таким образом, морфогенез представляет собой многоуровневый динамический процесс, который в конечном итоге приводит к формированию интегрированной сбалансированной (целостной) особи конкретного биологического вида.

Морфогенез как рост и клеточная дифференцировка относится к **ациклическим** процессам, т.е. не возвращающимся в прежнее состояние и по большей части необратимым. Главное свойство ациклических процессов - их пространственно-временная организация. Проблема формирования пространственной структуры развивающегося организма относится к одной из наиболее сложных в биологии.

Каковы же движущие силы морфогенеза? Этот вопрос до сих пор остается открытым.

Безусловно, в осуществлении морфогенеза значительная роль принадлежит генетической информации, которую организм получает при формировании (образовании в момент оплодотворения). Геном обеспечивает возможность развития особи конкретного вида. Постепенные прогрессирующая и последовательная дифференциации клеточных комплексов и

частей зародыша, образование определенных структур и органов в ходе его развития осуществляется на основе **дифференциальной экспрессии генов** (см. п. 8.2.5) в идентичных наборах (необходимо помнить о диплоидности зиготы и соматических клеток, что определяет возможность присутствия в генотипах разных зародышей различных аллельных форм конкретных генов). При этом в формировании даже отдельного признака, не говоря уже об образовании сложной пространственной структуры развивающегося организма, участвует значительное число генов, которое может достигать нескольких тысяч (рис. 8.55).



Рис. 8.55. Примерное число генов, участвующих в форсировании органов человека

Система генов, регулирующих образование какого-либо органа или реализацию конкретного морфогенетического процесса, организована по **иерархическому принципу**. Так, в ходе онтогенеза происходит последовательная активация определенных групп генов, причем продукты ранее активированных генов влияют на экспрессию следующих групп. В генных каскадах существуют «**гены-господа**» («**мастер-гены**»), активация которых инициирует процесс и включает экспрессию целого

комплекса подчиненных «**генов-рабов**», что в конечном итоге и приводит к формированию определенной структуры. Примером такого «мастер-гена» является ген *eye*, запускающий развитие глаза у дрозофилы. Убедительным свидетельством генетического контроля морфогенеза могут служить также открытые недавно различия в регуляции органогенеза трехкамерного и четырехкамерного сердца. Изучение развития сердца у амфибий, рептилий, млекопитающих и птиц показало, что ключевую роль в превращении в ходе эволюции трехкамерного сердца в четырехкамерное сыграли изменения в работе регуляторного гена *Tbx5*. В трехкамерном сердце этот ген экспрессируется равномерно в зачатке желудочка, а в четырехкамерном ген активен только в левой его части.

Таким образом, в геноме организмов содержится информация о развитии особи определенного вида и, кроме того, присутствуют гены, экспрессия которых может привести к формированию

Источник KingMed.info

конкретных зародышевых листков, органов, тканей. В генотипе зиготы содержатся также аллели родителей, обладающие возможностью реализоваться в определенные признаки. Однако известно, что разноуровневая регуляция экспрессии генов (вспомним хотя бы альтернативный сплайсинг) приводит к тому, что результатом активности даже одних и тех же генов могут быть совершенно разные наборы конечных продуктов и, как следствие, множественность возможных путей развития.

Каким же образом активность отдельных генов, генных комплексов и генных каскадов может определить из каких именно клеток, в каком месте и в какой конкретной форме разовьется тот или иной орган? Этот вопрос становится еще более интригующим, если учесть такое наблюдаемое в онтогенезе явление, как **перекрытие программ развития**. Оно подразумевает, что в самую начальную фазу клеточной дифференцировки включается с разной степенью эффективности несколько разных программ развития, еще не дающих однозначного решения конечной клеточной судьбы. Например, в дифференцирующемся в катехоламинэргическом направлении нейробласте происходит не только синтез и(м)РНК для образования компонентов катехоламинэргической системы, но и существенно более слабый синтез и(м)РНК для компонентов холинэргической системы. Если в определенный момент развития сменить иннервируемую данной клеткой катехоламинэргическую мишень на холинэргическую, то активируется синтез «холинэргических» РНК, а продукция «катехоламинэргических» начнет тормозиться. В результате произойдет изменение пути развития клетки - трансдетерминация. Несмотря на возможность изменений, в ходе эмбриогенеза реализуются строго упорядоченные морфогенетические процессы, и с очень высокой пространственной точностью формируется организм конкретного вида, обладающий определенной структурой и значительно более богатой информацией, чем генетическая информация зиготы. Очевидно, что реализация морфогенеза не определяется только функционированием генетического материала.

Для объяснения механизмов морфогенеза был предложен ряд концепций. Суть некоторых из них заключается в определении судьбы клеток зародыша в соответствии с формируемыми в развивающемся организме градиентами.

В начале XX в. американским ученым Ч. Чайльдом разработана **концепция физиологических градиентов**. По мнению автора, пространственная локализация процессов клеточной дифференцировки и морфогенеза определяется обнаруживаемыми у многих животных градиентами интенсивности обмена веществ и совпадающими с ними градиентами повреждаемости тканей. Обычно они снижаются от переднего (головного, роstralного, анимального) полюса зародыша к заднему (хвостовому, каудальному, вегетативному). Возникновение самих градиентов определяется гетерогенностью внешней среды, например распределением питательных веществ, концентрацией кислорода или силой тяжести. Любое из перечисленных условий или их совокупность могут вызвать первичный физиологический градиент в яйцеклетке. Затем возможно возникновение вторичного градиента под некоторым углом к первому. Система из двух или более градиентов и создает определенную координатную систему, функцией координаты является судьба клетки.

В 1969 г. английским биологом Л. Вольпертом сформулирована **концепция позиционной информации** (модель трехцветного французского флага) - одна из наиболее распространенных точек зрения на данный момент. Под позиционной информацией подразумевается зависимость судьбы той или иной клетки от ее положения (позиции) в системе развивающегося организма. Позиция определяется концентрацией химических веществ - **морфогенов**. По современным представлениям, морфоген выделяется из локального источника (группы клеток или определенной зоны зародыша), и во время последующей диффузии в ткани образуется градиент

Источник KingMed.info

его концентрации. В развивающемся зародыше одновременно существуют градиенты различных морфогенов, диффундирующих из нескольких источников. Позиционная информация в виде различных концентраций разнообразных морфогенов воспринимается клетками, и их детерминация и дифференцировка определяются полученными сигналами (рис. 8.56). Один и тот же набор сигналов может по-разному восприниматься и интерпретироваться клетками в зависимости от их чувствительности к различным концентрациям морфогена. Таким образом, создается своеобразная химическая мозаика, определяющая план строения организма, воплощаемый в жизнь в ходе онтогенеза. Важно то обстоятельство, что подобные градиенты морфогенов могут возникать как в целом зародыше на начальных этапах эмбриогенеза, так и в отдельных формирующихся зачатках в дальнейшем развитии. Получаемая клеткой позиционная информация определяет, какую часть образующейся структуры и в каком именно месте зародыша клетка будет формировать.

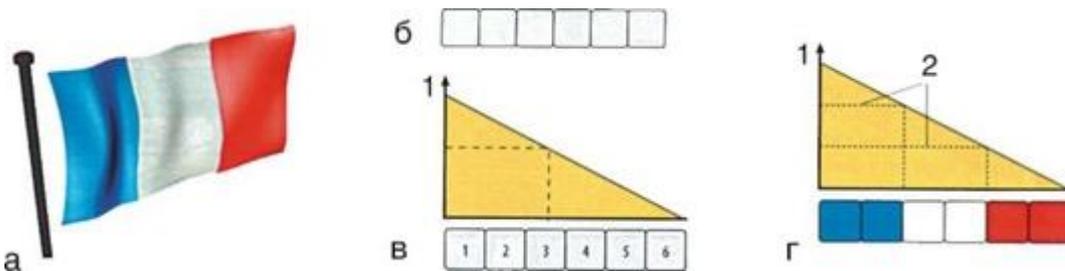


Рис. 8.56. Модель французского флага: а - изображение флага; б - каждая клетка потенциально может стать красной, синей или белой; в - позиция каждой клетки характеризуется определенным уровнем морфогена; г - направление дифференцировки клетки зависит от позиционной информации; 1 - концентрация морфогена; 2 - пороговые уровни морфогена

За последние годы осуществлено много исследований, посвященных роли морфогенов, особенно в развитии плодовых мушек (*Drosophila*) и амфибий (*Xenopus*). Так, у дрозофилы к группе морфогенов относят продукты активности генов с материнским эффектом, например, гена *bicoid* (*bcd*) (см. п. 8.2.6). Градиент концентрации данного морфогена в яйцеклетке определяет формирование передне-задней оси (передне-заднего направления) развивающегося организма. Морфогенами являются также факторы шпемановской индукции у амфибий. Под действием различных соотношений концентраций фактора *noggin*, секретируемого в области дорзальной губы бластопора, и вентрализирующего фактора *BMP* удалось получить различный набор осевых структур зародыша. Очень показательны в этом отношении опыты японского исследователя Асашимы. Помещение клеток дорзального полюса бластулы амфибий (презюмтивной эктодермы) в растворы, содержащие различные концентрации активина (белка из группы *TGF-β*), приводило к их дифференцировке в клетки хорды, сердца, мышц и других структур (рис. 8.57).

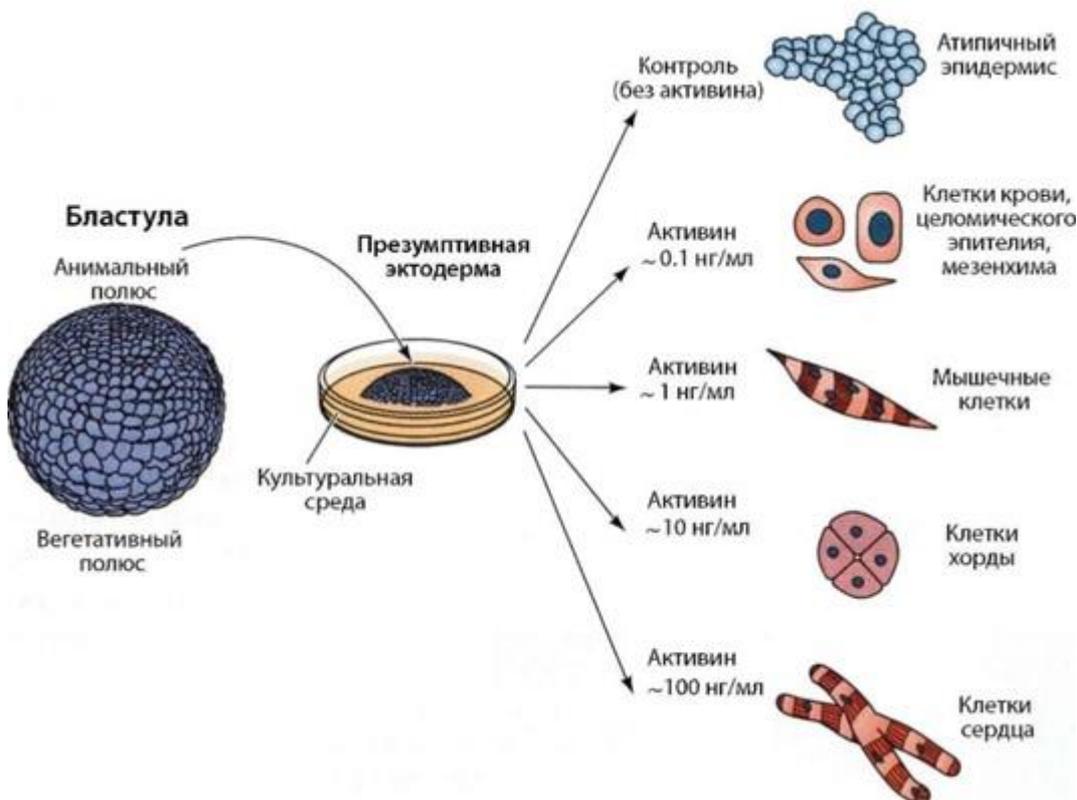


Рис. 8.57. Влияние различных концентраций активина на дифференцировку клеток презумптивной эктодермы амфибии в культуре

Однако представленные концепции не обладают целостностью. Очевидно, что одинаковые сигналы могут прочитываться клетками совершенно по-разному. Кроме того, градиенты в формирующемся зародыше могут изменяться. В опытах по перемешиванию клеток зародыша, объединению нескольких зародышей, удалению части клеток зародыша, при которых все сформированные градиенты нарушаются, наблюдается тем не менее возникновение нормальных (ожидаемых) закладок и формирование полноценных сложных структур. Все сказанное позволяет сделать вывод, что возникающие градиенты не являются той единственной движущей силой, которая однозначно определяет сложный процесс морфогенеза.

Изменение концентрации того или иного морфогена, вероятнее всего, не определяет однозначно направление клеточной дифференцировки, а носит дестабилизирующий характер, т.е. выводит клетки из исходного недифференцированного состояния. Достижение же клеткой окончательного состояния зависит в значительной мере от межклеточных взаимодействий, геометрии клеточных групп, их движений, механических напряжений и т.д. Рассуждения подобного рода привели к разработке в 20-30-х гг. XX в. **концепции морфогенетического поля**. Наиболее разработанные концепции эмбрионального поля принадлежат австрийскому биологу П. Вейсу и двум российским-советским ученым А.Г. Гурвичу и Н.К. Кольцову. Они рассматривают весь зародыш (на ранних стадиях развития) либо отдельный его участок (на более поздних стадиях) как единое целое, развитием которого управляет поле этого целостного образования, созданное всей совокупностью элементов данного поля. Так, у амфибий и других животных на стадии поздней бластулы можно совершенно точно указать так называемые презумптивные (предполагаемые) зачатки - области, из которых разовьются те или иные органы (см. п. 7.4.2.2). Эти области можно рассматривать как **морфогенетические поля**.

По мнению П. Вейса и А.Г. Гурвича, морфогенетическое поле не обладает обычными физико-химическими характеристиками. Так, А.Г. Гурвич полагал, что в формообразовательных

Источник KingMed.info

процессах принимает участие биологическое поле, источником которого, вероятно, являются ядро клетки, его хромосомы. Клетки оказывают влияние друг на друга своими полями. Общее (целое) поле зародыша или зачатка какой-либо структуры - объединение полей всех составляющих его клеток. Н.К. Кольцов, напротив, считал, что силовое поле, с которым связано развитие зародыша, является физическим. Оно порождает потенциалы различной природы (электрической, химической, температурной, гравитационной и др.), под влиянием которых и осуществляются морфогенетические процессы.

Согласно всем этим концепциям, поле развивается так же, как и зародыш. Первоначальное воздействие поля приводит к осуществлению какого-либо морфогенетического процесса (например, образованию определенной закладки), следствием чего становится изменение поля, а это, в свою очередь, приводит к дальнейшему формообразованию. Таким образом, по мере развития образуются все новые и новые поля, управляющие развитием различных структур (органов).

По мнению П. Вейса, клетки формирующегося организма пассивны, и их преобразования полностью определяются морфогенетическим полем. По теории А.Г. Гурвича - поле порождает сами клетки зародыша.

В настоящее время **полями органов** называют эмбриональные территории, на которые распространяется состояние целостной детерминации, т.е. способности развиваться в зачаток того или иного органа.

Экспериментально установлено, что внутри поля образуется лишь один данный зачаток, тогда как развитие второго такого же, пересаженного в то же самое поле, подавляется, или он сливается с первым. Из любого малого участка поля формируется целый нормальный орган, хотя обычно меньшего размера. Каждое из полей (полей конкретных структур или органов) развивается независимо от других, т.е. какое-либо воздействие на одно из полей не влияет на соседнее.

Все элементы целого поля тем или иным способом «ощущают» друг друга, определяют свое положение и в соответствии с полученной информацией координируют свое поведение. Каким же образом осуществляется эта координация?

В настоящее время точно установлено, что в основе координированного развития лежат межклеточные и межзачатковые взаимодействия. Так, при формировании практически любой структуры развивающегося организма (глаз, зубов, легких и др.) наблюдаются реципрокные (дву-взаимонаправленные) индуктивные взаимодействия между элементами **морфогенетического поля**.

Яркий пример подобных взаимодействий наблюдается при формировании конечности. Источником ее развития служат скопление клеток, происходящих из **боковой мезодермы**, и покрывающие это **скопление клетки эктодермы** (рис. 8.58). Развитие конечности начинается с активации клеток боковой мезодермы в непосредственной близости

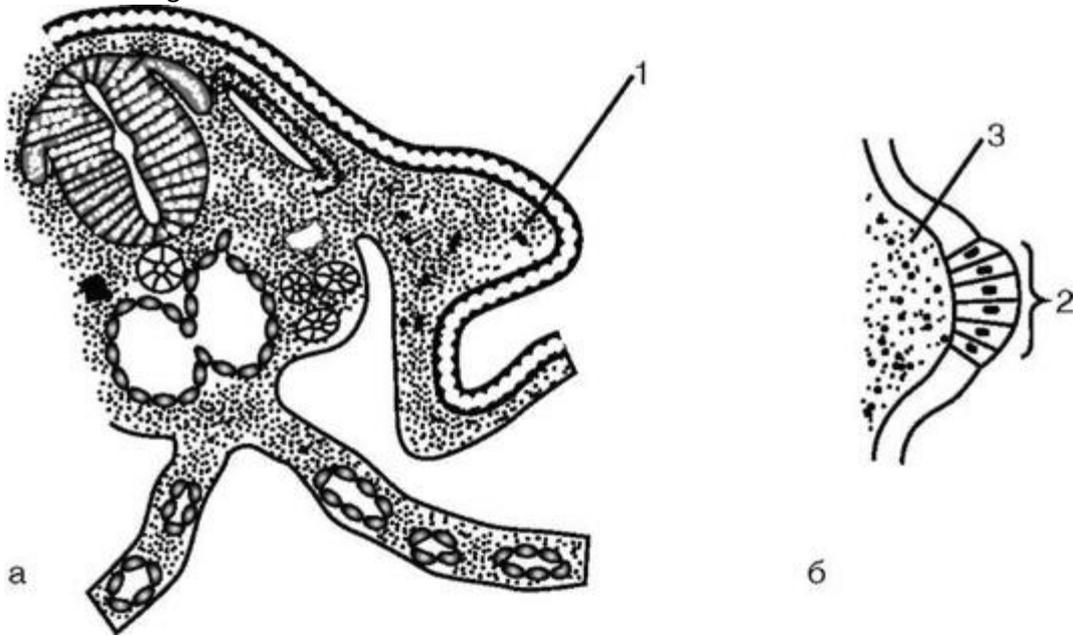


Рис. 8.58. Расположение элементов развивающегося крыла: а - схема расположения почки крыла; б - почка крыла; 1 - почка крыла; 2 - апикальный эктодермальный гребень; 3 - мезодерма от сомитов, которые, возможно, оказывают индуцирующее влияние на мезодерму в области будущей конечности. Активированные мезодермальные клетки зачатка конечности воздействуют на покрывающую их эктодерму, в результате чего она утолщается. Вершущку этого образовавшегося утолщения эпидермиса называют **апикальным эктодермальным гребнем**. Последний стимулирует рост **почки конечности** (при его удалении рост почки конечности прекращается), и под его влиянием происходит дифференцировка клеток мезодермы и образование дистальных отделов конечности. Мезодерма же поддерживает гребень в активном состоянии и определяет форму конечности. Например, мезодерма из почки крыла при соединении с эктодермой почки ноги образует крыло, покрытое перьями (рис. 8.59).

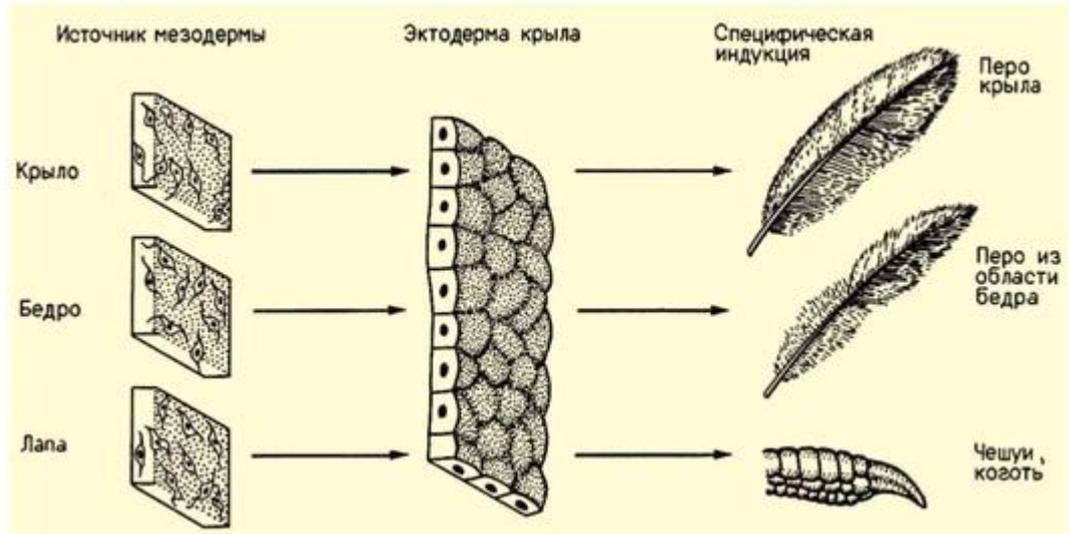


Рис. 8.59. Роль мезодермы в формировании конечности

Взаимодействия между элементами поля могут иметь химическую, электрическую, механическую природу. Свое влияние может оказывать также тонкая структура твердого субстрата. Подобные взаимодействия могут быть не только ближними (между соседними элементами зародыша), но и дальними - между элементами, непосредственно между собой не контактирующими (поэтому и появился сам термин «поле»).

Источник KingMed.info

Рассмотрим некоторые примеры таких взаимодействий. Установлено, что в формирующейся конечности есть морфогенетически активная область - **зона поляризующей активности (ЗПА)**. Она находится у основания закладки конечности на заднем крае. Ее присутствие необходимо для формирования передне-задней асимметрии конечности,

а именно образования определенного количества, формы и расположения пальцев. Это было доказано следующими опытами. Удаление ЗПА приводило к формированию симметричной конечности, а при подсаживании дополнительной ЗПА на передний край зачатка наблюдалось зеркальное удвоение конечности (рис. 8.60). Установлено, что в ЗПА выявляется повышенная концентрация **ретиноевой кислоты**. Предполагалось, что создается передне-задний градиент этого вещества, который и определяет асимметрию конечности. Однако эксперименты с репортерным геном, применение которого позволяет оценить экспрес-

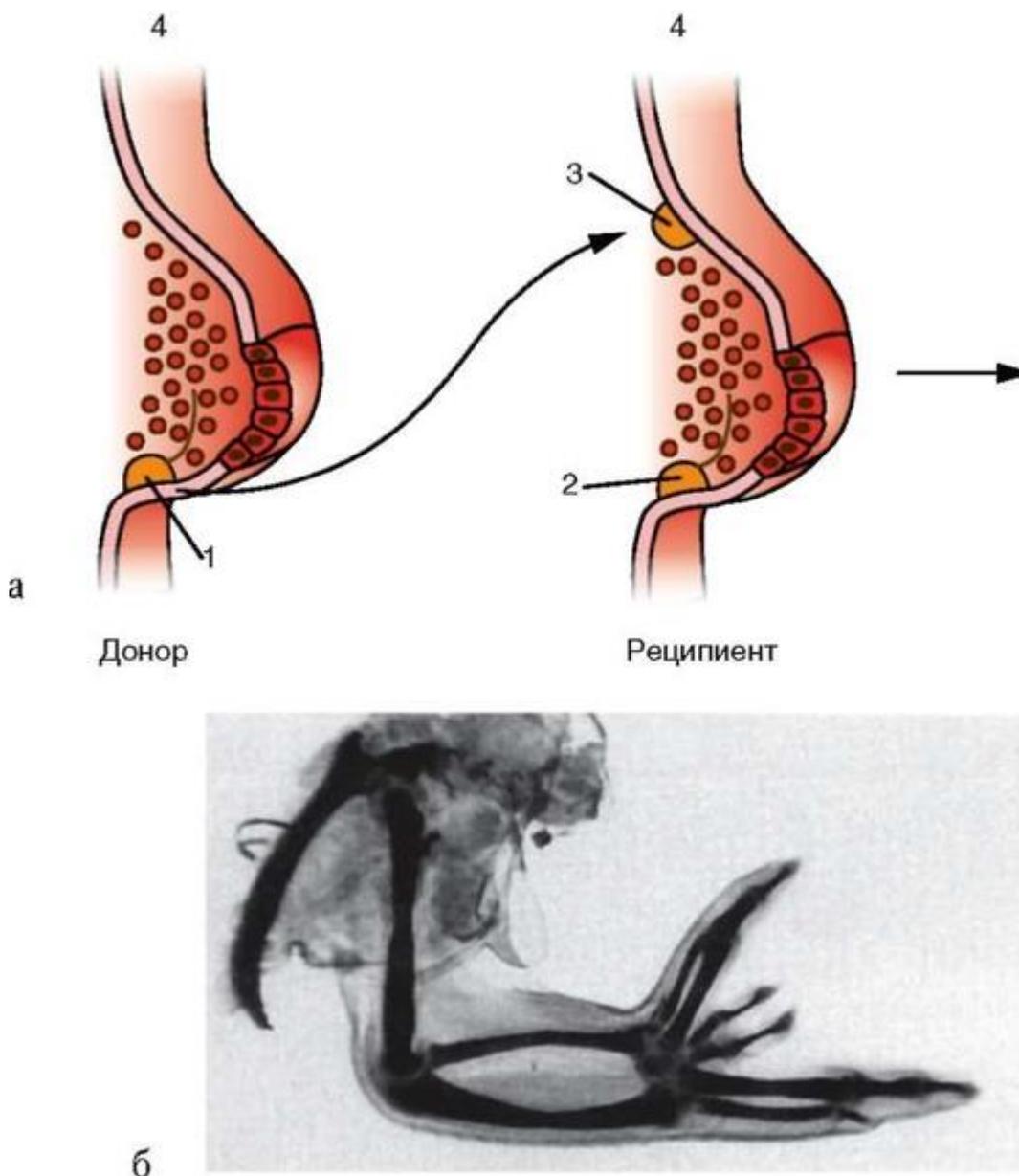


Рис. 8.60. Роль зоны поляризующей активности (ЗПА) в формировании конечности: а - схема эксперимента; б - фотография зародыша с зеркально удвоенной конечностью. 1 - локализация ЗПА в норме; 2 - собственная ЗПА реципиента; 3 - добавочная трансплантированная ЗПА; 4 - передний край развивающейся конечности

сию генетического материала в точке вставки этого гена, показали, что ретиноевая кислота действует не напрямую, а опосредованно, активируя синтез другого вещества, которое и является **морфогеном**. Это белок, кодируемый геном *Sonic Hedgehog*. Таким образом, в поле зачатка происходит получение позиционной информации на основе градиентов химических веществ, но это, как было сказано, лишь один из возможных вариантов.

Еще один определяющий морфогенез фактор - **взаимодействия клеток с твердым субстратом**. Примером могут служить **эпителиально-мезенхимальные** взаимодействия при образовании почки. Ее развитие происходит при участии эпителия формирующегося мочеточника и нефрогенной мезенхимы (рис. 8.61). Мезенхимные клетки продуцируют коллаген межклеточного матрикса, который повышает пролиферативную активность эпителия и стимулирует его развитие и ветвление. Под влиянием закладки мочеточника происходит конденсация клеток мезенхимы, и в ее межклеточном матриксе наблюдается замена ранее присутствующего коллагена I типа на вновь синтезируемый коллаген IV типа и ламинин. В результате мезенхимные клетки превращаются в эпителиальные и начинают формировать капсулы и каналцы нефронов.

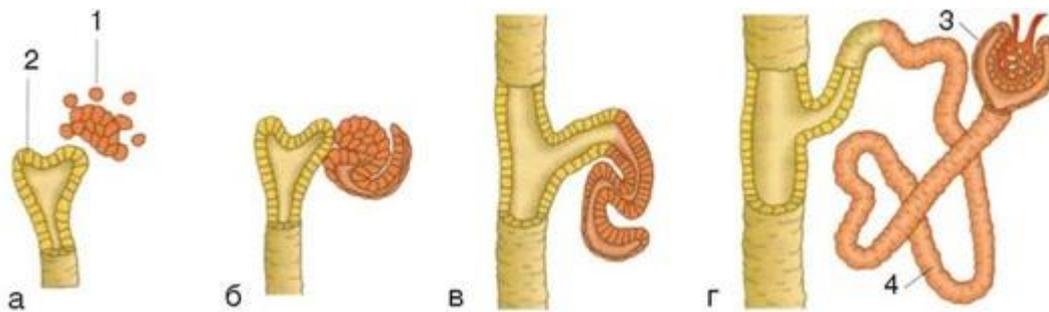


Рис. 8.61. Развитие почки: а-г - последовательные стадии; 1 - мезенхима; 2 - эпителий формирующегося мочеточника; 3 - капсула нефрона; 4 - каналец нефрона

В реализации морфогенетических процессов определенная роль принадлежит **механическим напряжениям**. Так, при формировании глаза позвоночных животных образование сетчатки происходит из внутреннего сжатого слоя белочной оболочки, а клетки наружного растянутого слоя становятся пигментными (см. рис. 8.34). В эксперименте показано, что при культивировании глазного зачатка в условиях, исключающих растяжение, он весь превращается в сетчатку, а в условиях распластывания - в пигментный эпителий. Роль механических напряжений показана и для дифференцировки ряда других клеток - эритроцитов, фибробластов, клеток хряща и кости. Позднее было установлено, что механические напряжения влияют на скорость синтеза белков и нуклеиновых кислот и тем самым на процессы дифференцировки. В развитии зародыша дрозофилы под действием давления, оказываемого на глотку следующими за ней отделами кишки, происходит активация гена *Armadillo*. Этот ген может быть активирован и искусственным механическим давлением. Если давление устранить, то экспрессия гена не происходит. Некоторое время назад считалось, что в межклеточных пространствах, так же как и в цитоплазме и клеточном ядре, находится что-то вроде разбавленных растворов, в которых осуществляется свободная диффузия сигнальных молекул. К настоящему времени, однако, накапливаются данные в пользу **«твердотельной» модели**, согласно которой большинство сигналов передается по «жестким конструкциям» из определенных белковых молекул. Эти конструкции собираются в ответ на специфические сигналы и разбираются в их отсутствие. В такой системе свободная диффузия молекул возможна лишь на весьма короткие расстояния (в несколько нанометров), а основная часть сигналов передается именно благодаря структурным

Источник KingMed.info

перестройкам белковых конструкций. В связи с этим считают, что ядро, цитоплазма и внеклеточный матрикс обладают динамической, т.е. постоянно изменяющейся, архитектурой.

Таким образом, в ходе морфогенеза реализуются разнообразные межклеточные взаимодействия, осуществляемые на основе действия химических, физических и иных факторов. При рассмотрении процессов формообразования их действие разграничить весьма сложно. Каким бы ни было воздействие, в результате него клетка тем или иным путем получает определенный сигнал. В большинстве случаев это происходит посредством взаимодействия сигнальных молекул (лигандов) с рецепторными белками мембран клеток-мишеней. Сигнальная молекула может выделяться клеткой и передаваться по межклеточному пространству к клетке-мишени, может быть встроена в мембрану клетки и при контактных межклеточных взаимодействиях восприниматься клеткой-мишенью, или может быть выделена клеткой и при взаимодействии через внеклеточный матрикс фиксирована на его компонентах. Образующийся лиганд-рецепторный комплекс активирует **внутриклеточный сигнальный путь** (как правило, это цепь биохимических реакций, в которых принимают участие различные вторичные посредники - см. раздел 2.4.2). В итоге достигается изменение экспрессии (например, активация) определенных генов и необходимая реакция клеток-мишеней: синтезируются требуемые белки, изменяется интенсивность энергетического обмена, запускаются клеточная пролиферация, апоптоз, дифференцировка и таким образом реализуется морфогенетический процесс. Оказалось, что сигнальные пути (каскады) очень консервативны. Набор сигнальных молекул и путей передачи сигналов сравнительно невелик. Они работают в морфогенезе беспозвоночных и позвоночных животных, что свидетельствует об их появлении в эволюции у общего предка двустороннесимметричных животных. Для некоторых видов межклеточных взаимодействий выявлены молекулярные механизмы, т.е. основные звенья сигнальных каскадов от лиганда через трансмембранные рецепторы и вторичные (внутриклеточные) посредники до активируемых генов.

Наряду с консерватизмом сигнальные пути обладают высокой степенью гибкости при ответах на межклеточные взаимодействия. Каждый сигнальный каскад (сигналлинг) неоднократно включается в разных тканях в процессе развития организмов, регулируя пространственную и временную специфичность экспрессии генов, определяющих пути дифференцировки различных клеток разнообразных формирующихся структур. Так, белки семейства *Hh* (*Hedgehog*) млекопитающих в качестве лигандов принимают участие в морфогенезе конечностей, образовании аорты и основных вен, регионализации нервной трубки и многих других процессах. Считают, что у позвоночных развитие лишь небольшого числа морфологических отделов тела не подвержено влиянию *Hh*-сигнала. У дрозофилы *Hh*-белки экспрессируются в клетках заднего отдела каждого имагинального диска. Им принадлежит центральная роль в эмбриональном развитии крыла, глаза, конечностей, гонад, брюшка, кишки и трахеи.

Неоднозначные эффекты одного и того же лиганда объясняются следующим. Возможно образование множества изоформ лигандов и рецепторов. Лиганд способен связываться с разными рецепторами. В свою очередь, один и тот же рецептор в разных тканях может активировать разные внутриклеточные посредники. Таким образом оказывается влияние на экспрессию разных групп генов и активируются альтернативные пути развития клеток. В регуляции экспрессии генов-мишеней могут одновременно участвовать несколько **сигнальных путей**, которые связываются между собой через боковые передающие цепочки, влияя друг на друга промежуточными продуктами. Результаты регуляции существенно зависят от параметров

Источник KingMed.info

взаимодействия между каскадами. Подобные «разветвленные» взаимодействия обуславливают формирование **сигнальных сетей**.

Таким образом, действие одних и тех же лигандов, активация одних и тех же сигнальных путей, экспрессия одних и тех же (или очень близких по структуре) генов у разных видов животных и даже у одного и того же вида на разных стадиях развития приводит к осуществлению совершенно различных дифференцировок. Возможно также и обратное. Формирование гомологичных органов у эволюционно родственных групп организмов происходит под контролем совершенно различных молекулярно-генетических систем. Это позволило сделать заключение, что гены или сигнальные пути, взятые сами по себе, не могут управлять дифференцировкой клетки. Ответ клетки на конкретный сигнал и активация ею того или иного молекулярно-генетического механизма определяется всей предыдущей историей развития данной клетки. С этой точки зрения результаты межклеточных взаимодействий являются **контекст-зависимыми**. Под «**контекстом**» понимают состояние конкретной клетки в данный момент, которое определяется ее онтогенетической историей.

Существование предшествующей истории развития (контекст-зависимость) позволяет в некоторых случаях легко трансформировать дифференцированную клетку в другой клеточный тип. Например, фи-бробласт можно трансформировать в миобласт (мышечную клетку), если активировать лишь один ген *MyoB*. Он, в свою очередь, запускает действие других генов, которые кодируют специфические мышечные белки. Такая возможность обусловлена близким сходством «контекстов» фибробластов и миобластов, т.е. сходством начальных стадий их дифференцировки.

Процесс формообразования может быть реализован при изменении положения, уменьшении или увеличении количества бластомеров, в атипичном месте или изолированно от организма. Так, если зачаток бедра куриного зародыша культивировать в искусственной среде, он продолжает развиваться в прежнем направлении. Глаз крысы, изолированный на стадии 14-17 сут, продолжает автоматически развиваться, хотя дефектно и медленнее. Через 21 сут глаз в культуре тканей приобретает ту степень сложности структуры, которую нормально он уже имеет на 8-е сутки после рождения крысы. Морфогенетический процесс может быть запущен активацией определенных генов или в результате взаимодействия элементов зародыша. Следовательно, можно предположить, что в процессе формирования структуры зародыша обладают способностью к **саморазвитию**, в достаточной степени **автономны** и **регулируются** самой целостной развивающейся системой. Это позволяет рассматривать морфогенез как **самоорганизующийся** и **самоконтролируемый** процесс, причем целостными свойствами обладает не только каждая по отдельности стадия развития данного органа, но и весь путь развития.

Для объяснения всех этих явлений на вооружение взята физико-математическая **теория самоорганизации неравновесных природных систем**, как биологических, так и небологических. Термин «самоорганизующаяся система» ввел в 1947 г. английский кибернетик У.Р. Эшби.

Однако сегодня еще рано говорить о появлении единой теории самоорганизации. Можно лишь констатировать существование различных концепций самоорганизации. В частности, можно указать на работы известного биолога К. Уоддингтона о морфогенезе как системе **креодов**. В процессе эмбриогенеза осуществление записанной в генах программы развития происходит в конкретных условиях среды. Взаимодействие генов и среды описывается на следующей модели

Источник KingMed.info

(рис. 8.62). Эмбриональное развитие сравнивается с шариком, катящимся по наклонной поверхности с разными желобками, названной **эпигенетическим ландшафтом** (пространство возможностей). Структурно-устойчивые пути развития структур (желобки) обозначаются как **креоды**. Самый глубокий желобок, соответствующий наиболее вероятному пути, определяет нормальное развитие организма. У этого основного желобка есть много разветвлений, менее глубоких, соответствующих отклонениям в развитии, по ним шарик покатится с меньшей долей вероятности. Мутации меняют

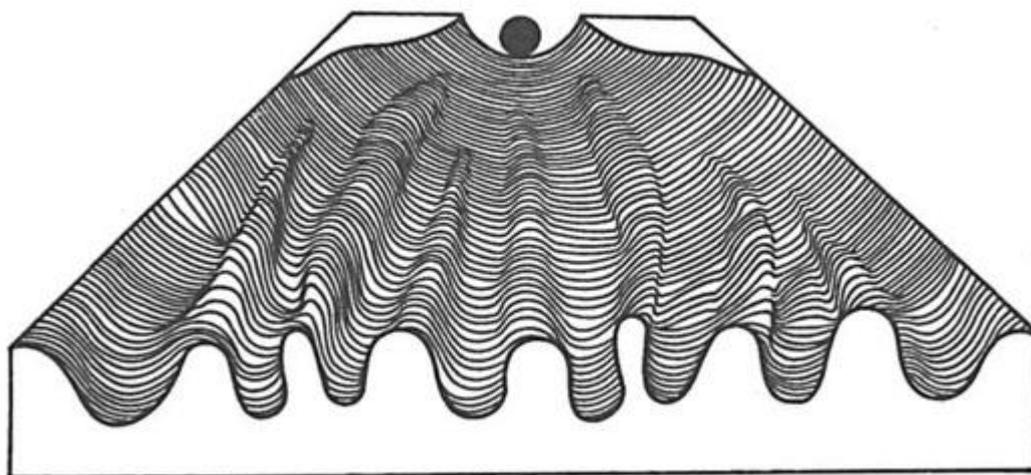


Рис. 8.62. Эпигенетический ландшафт Уоддингтона

соотношение вероятностей разных путей (на рисунке - меняется глубина желобков), и увеличивают вероятность развития по «неправильному» пути. Однако в части случаев воздействие среды может скомпенсировать дефект и вернуть организм на нормальный путь развития. Используется широкое понимание термина **«среда»**: среда внутриклеточная (овоплазматическая сегрегация), внутриорганизменная (межклеточные и межзачатковые взаимодействия, гормональный фон и т.д.), внеорганизменная среда (в том числе воздействие лекарственных средств).

Близкие идеи лежат в основе концепции **диссипативных структур**. Диссипативными (от лат. *dissipatio* - рассеяние) называют энергетически открытые, термодинамически неравновесные биологические и небиологические системы, в которых часть энергии, поступающей в них извне, рассеивается. В настоящее время показано, что в сильно неравновесных условиях, т.е. при достаточно сильных потоках вещества и энергии, системы могут самопроизвольно и устойчиво развиваться, дифференцироваться. В таких условиях возможны и обязательны нарушения однозначных причинно-следственных связей и проявления эмбриональной регуляции и других явлений. Примерами диссипативных небиологических систем являются химическая реакция Белоусова-Жаботинского, а также математическая модель абстрактного физико-химического процесса, предложенная английским математиком А. Тьюрингом. В общих чертах применительно к морфогенезу идея такова (рис. 8.63). В некоторых самоорганизующихся системах существует первоначально однородное распределение молекул веществ. В простейшем случае их два: активатор и ингибитор, которые взаимодействуют друг с другом. В таких системах распределение веществ может спонтанно становиться волновым - появляются области с высокой (пик) и низкой концентрацией.

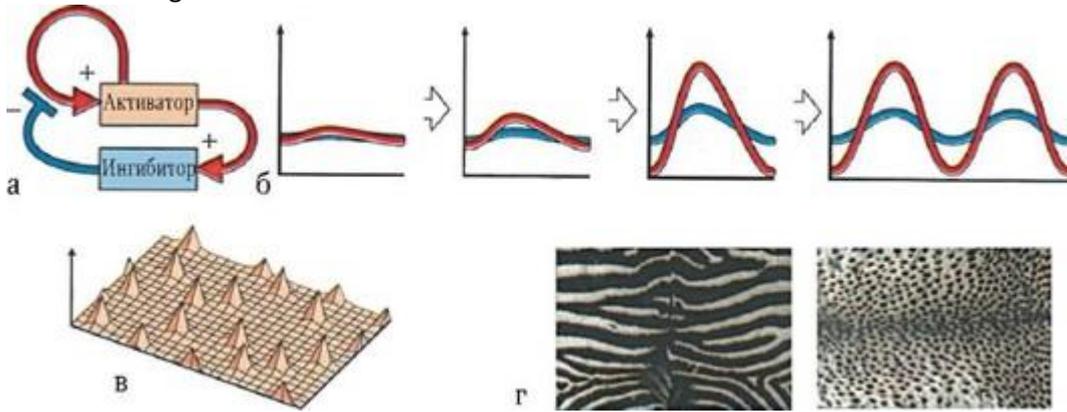


Рис. 8.63. Реакционно-диффузная модель морфогенеза: а - взаимодействие веществ в системе; б - последовательные стадии образования пиков в процессе морфогенеза; в - трехмерная модель области, где осуществляется формообразование; г - примеры окраски животных, морфогенез которых удалось смоделировать

Такая система названа реакционно-диффузной. При увеличении размеров системы число таких областей (пиков) возрастает. В случае нелинейных взаимодействий образуются сложные пространственно-временные режимы типа диссипативных структур - стационарных во времени и неоднородных по пространству распределений концентраций веществ, поддержание которых происходит за счет диссипации энергии системы.

С использованием этой модели была осуществлена динамическая компьютерная имитация формирования окраски у различных животных, например зебры, гепарда и др. Установлено, что запуск и остановка морфогенеза окраски происходит под управлением генетического аппарата, а формирование всего богатства окраски - результат образования различных диссипативных структур в ходе развития автоволновых процессов.

Несмотря на огромный интерес к процессу морфогенеза, многие проблемы формообразования остаются нерешенными. Теория морфогенеза до сих пор отсутствует, и его движущие силы остаются нераскрытыми. Все перечисленные концепции целостности развития носят пока фрагментарный характер, освещая то одну, то другую сторону процесса. Очевидно, что в ходе дальнейших научных исследований будут даны ответы на многие актуальные вопросы морфогенеза.

8.3.4. РОСТ

Рост - это увеличение общей массы и размеров организма в процессе развития. Он происходит на клеточном, тканевом, органном и организменном уровнях. Увеличение массы в целом организме отражает рост составляющих его структур.

Различают два типа роста: **ограниченный** и **неограниченный**. Неограниченный рост продолжается на протяжении всего онтогенеза, вплоть до смерти. Таким ростом обладают, в частности, рыбы. Многие другие позвоночные характеризуются ограниченным ростом, т.е. достаточно быстро выходят на плато своей биомассы. Обобщенная кривая зависимости роста организма от времени при ограниченном росте имеет s-образную форму (рис. 8.64).

До начала развития организм имеет некоторые исходные размеры, которые в течение короткого времени практически не изменяются.

Затем начинается медленное, а потом и быстрое возрастание массы. Некоторое время скорость роста может оставаться относительно постоянной и наклон кривой не меняется. Но вскоре

происходит замедление роста, а потом увеличение размеров организма прекращается. После достижения этой стадии устанавливается равновесие между расходом материала и синтезом новых материалов, обеспечивающих увеличение массы.

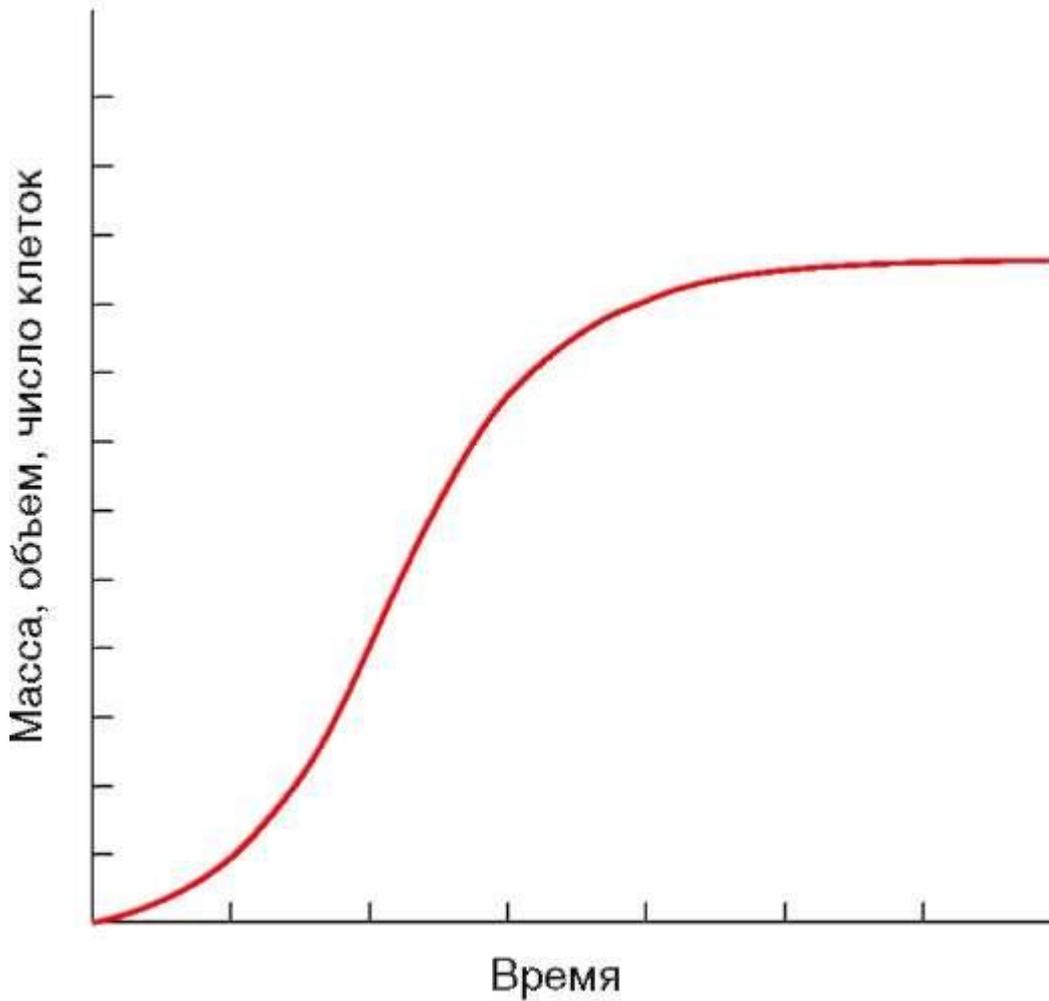


Рис. 8.64. Обобщенная кривая зависимости роста организма от времени

Рост обеспечивается следующими механизмами:

- увеличением числа клеток;
- увеличением размера клеток;
- увеличением объема и массы неклеточного вещества (рис. 8.65).

В первом случае говорят о **пролиферативном росте**. Рост большинства тканей у животных происходит путем митотических делений клеток, например рост кожи. В органах, состоящих из функциональных единиц, таких как печень, почки, легкие, также наблюдается пролиферативный рост. Количество нефронов в почке и альвеол в легком закладывается в раннем детстве (рис. 8.66). Рост этих органов происходит за счет добавления клеток к уже существующим структурам. В ткани печени возможно не только размножение клеток, но и формирование новых структур, например долек печени. Скорость роста определяется соотношением между пролиферацией клеток и их гибелью.

Пролиферативный рост известен в двух формах: **мультипликативный** и **аккреционный**.

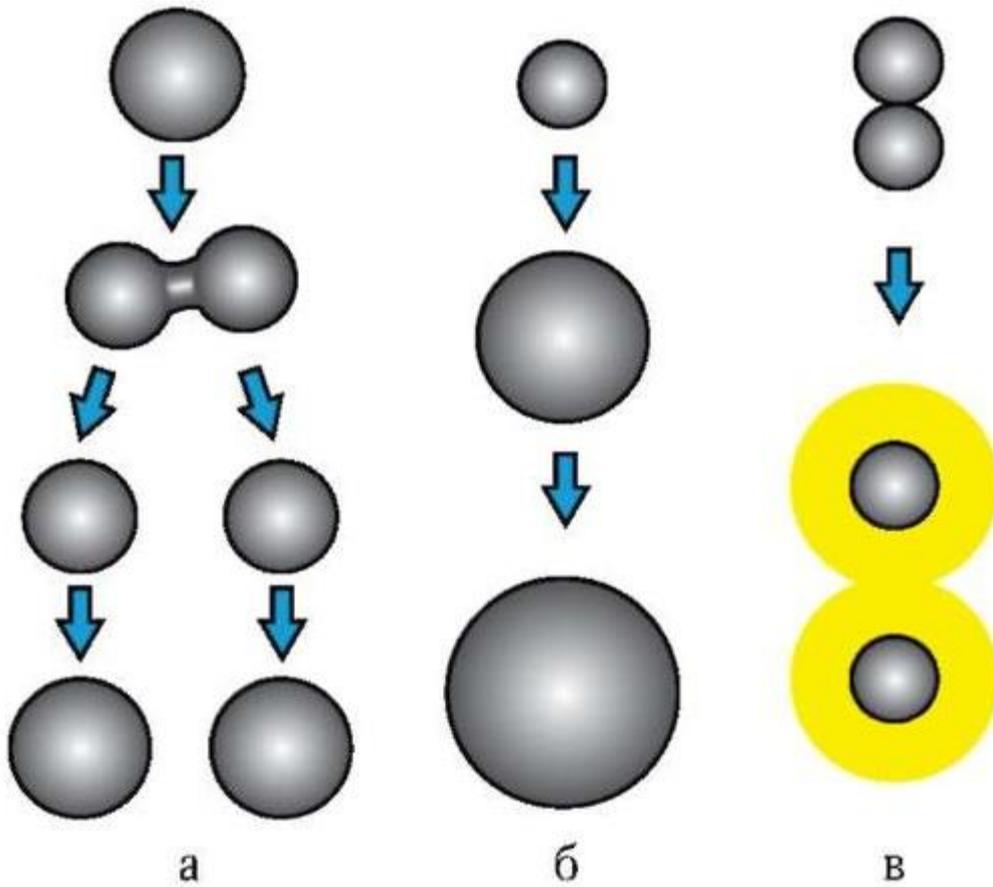


Рис. 8.65. Механизмы роста: а - пролиферативный; б - ауксентичный; в - за счет прироста межклеточного вещества

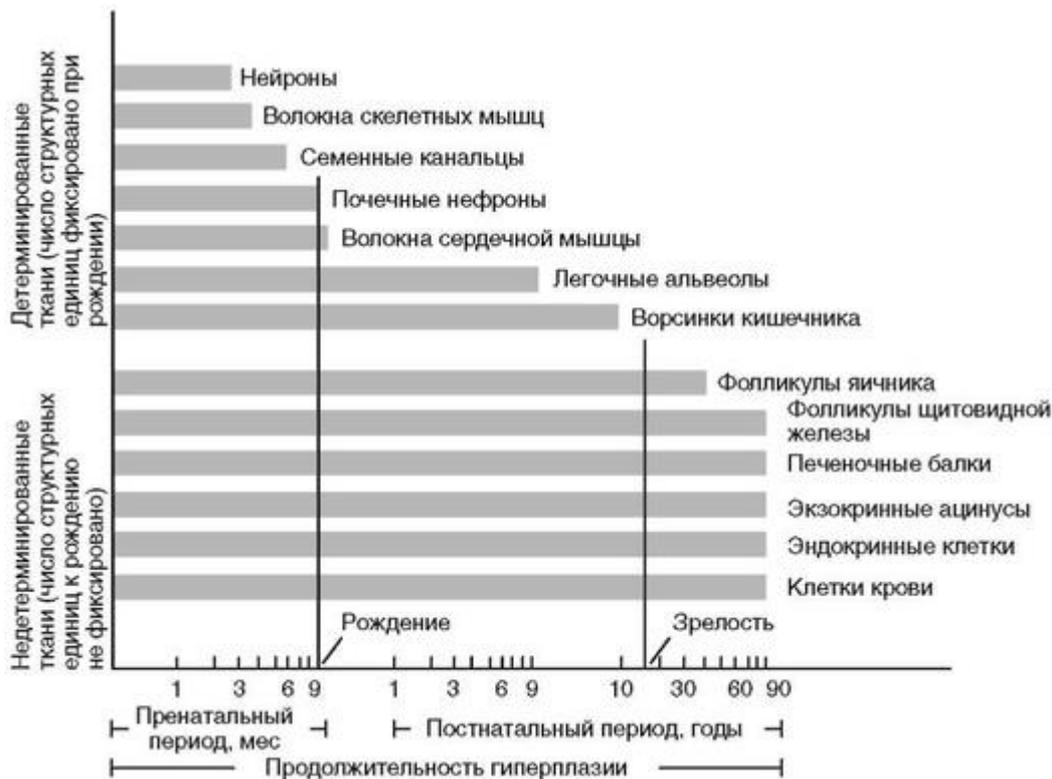


Рис. 8.66. Время, в течение которого к растущим структурам тела человека могут добавляться функциональные единицы

Мультипликативный пролиферативный рост характеризуется тем, что обе клетки, возникшие от деления родоначальной, снова вступают в деление (рис. 8.67, А). Число клеток (N) растет в геометрической прогрессии: если n - номер деления, то $N_n = 2^n$. Мультипликативный рост очень эффективен и поэтому в чистом виде почти не встречается или очень быстро заканчивается. У большинства организмов он происходит в эмбриональном и раннем постэмбриональном периоде.

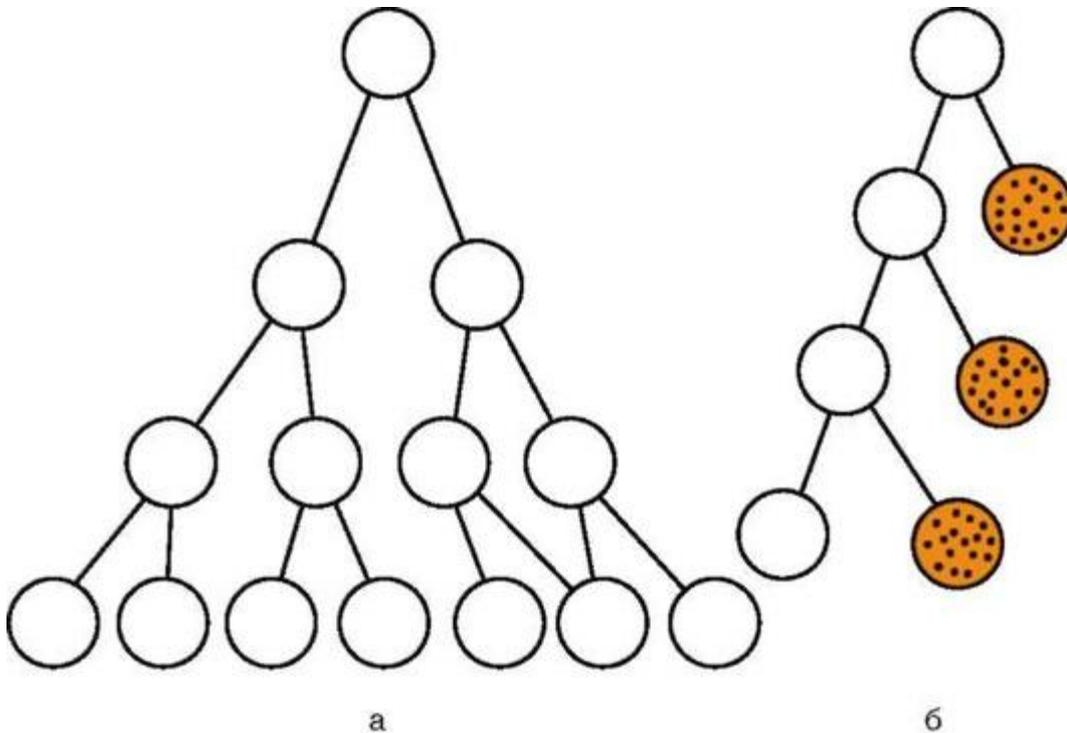


Рис. 8.67. Формы пролиферативного роста: а - мультипликативный; б - аккреционный (пояснения в тексте)

Аккреционный пролиферативный рост заключается в том, что после каждого последующего деления лишь одна из клеток снова делится, тогда как другая прекращает деление (заштрихована, рис. 8.67, Б). При этом число клеток растет линейно: если n - номер деления, то $N_n = 2n$. Этот тип роста связан с разделением органа на **камбиальную** и **дифференцированную** зоны. Клетки переходят из первой зоны во вторую, сохраняя постоянные соотношения между размерами зон. Такой рост характерен для тканей, где происходит обновление клеточного состава. Например, клетки эпителия кишечника, дыхательных путей - одна дочерняя клетка делится, а другая дифференцируется и после выполнения функций погибает.

Второй механизм роста характеризуется увеличением размеров клеток без изменения их количества - **ауксентичный** рост. К увеличению размера клетки может приводить возрастание объема цитоплазмы, количества органоидов, полиплоидизация. Такой рост характерен для коловраток, личинок насекомых, некоторых круглых червей, у которых число клеток тела фиксировано. В организме человека этот вариант роста встречается, например, у неделящихся дифференцированных нервных и мышечных клеток. Увеличение размеров мышечных волокон, количества содержащихся в них ядер происходит при слиянии волокон с сателлитными клетками. Рост нейронов происходит за счет увеличения размеров и ветвления отростков.

Источник KingMed.info

В некоторых органах наблюдается рост с участием обоих обсуждаемых механизмов. Так, в развитии хрусталика сначала осуществляется деление клеток пролиферативных зон, а затем, в ходе дифференцировки, увеличение размеров клеток.

В третьем случае рост базируется на **увеличении количества межклеточного вещества**. Так происходит в кости и хряще, где основная масса ткани приходится на экстрацеллюлярную часть. В межклеточном веществе при данном механизме роста могут происходить процессы минерализации, накапливаться метаболиты, увеличиваться содержание воды.

Пространственная организация роста сложна и закономерна. Она обеспечивает нормальное функционирование организма на протяжении всего онтогенеза. Клетки развивающейся особи должны получать питательные вещества, метаболизировать их и выделять конечные продукты обмена. Необходимость реализации этих процессов накладывает строгие ограничения на характер роста животного. Одно из основных ограничений - соотношение поверхности к объему. Если особь становится крупнее, но сохраняет свою старую форму, то площадь ее поверхности, имеющая большое значение для поглощения кислорода и питательных веществ, уменьшается по отношению к ее новому объему. Метаболические потребности растущего организма при этом возрастают.

Другое препятствие, связанное с увеличением размеров тела, - отношение между массой тела и размерами опорных и двигательных органов. Скорость роста последних в толщину должна быть очень высокой, т.к. в противном случае растущий организм будет раздавлен собственной тяжестью.

Пространственная организация роста может реализовываться в нескольких вариантах. **Изометрический рост** происходит путем включения нового материала в существующие ткани тела. Организм увеличивает свой объем, сохраняя пропорции неизменными. Такой вариант встречается, например, у членистоногих.

Логарифмическая спираль. Подобный тип роста характерен для животных, способных расти только с одного конца. Примером может служить развитие организма в раковине. В простейшем случае такой рост представляет собой расширение и удлинение этого животного в одном и том же отношении в течение всей жизни.

Третий вариант - **аллометрический (дифференциальный) рост**. Это означает, что скорость роста неодинакова, во-первых, в различных участках организма и, во-вторых, на разных стадиях развития. Очевидно, что дифференциальный рост оказывает огромное влияние на морфогенез. Благодаря нему достигается видоспецифичность размеров и строения организмов. Наглядный пример такого рода представлен на рис. 8.68. Самец манящего краба *Uca pugnax* первоначально на первой паре ног имеет клешни, каждая из которых составляет 8% от общей массы тела. По мере роста краба одна клешня увеличивается гораздо быстрее другой, и у взрослого самца достигает 38% его массы. Она служит ему для защиты и угрозы. У самок этого вида масса клешни по-прежнему составляет примерно 8% от массы тела.

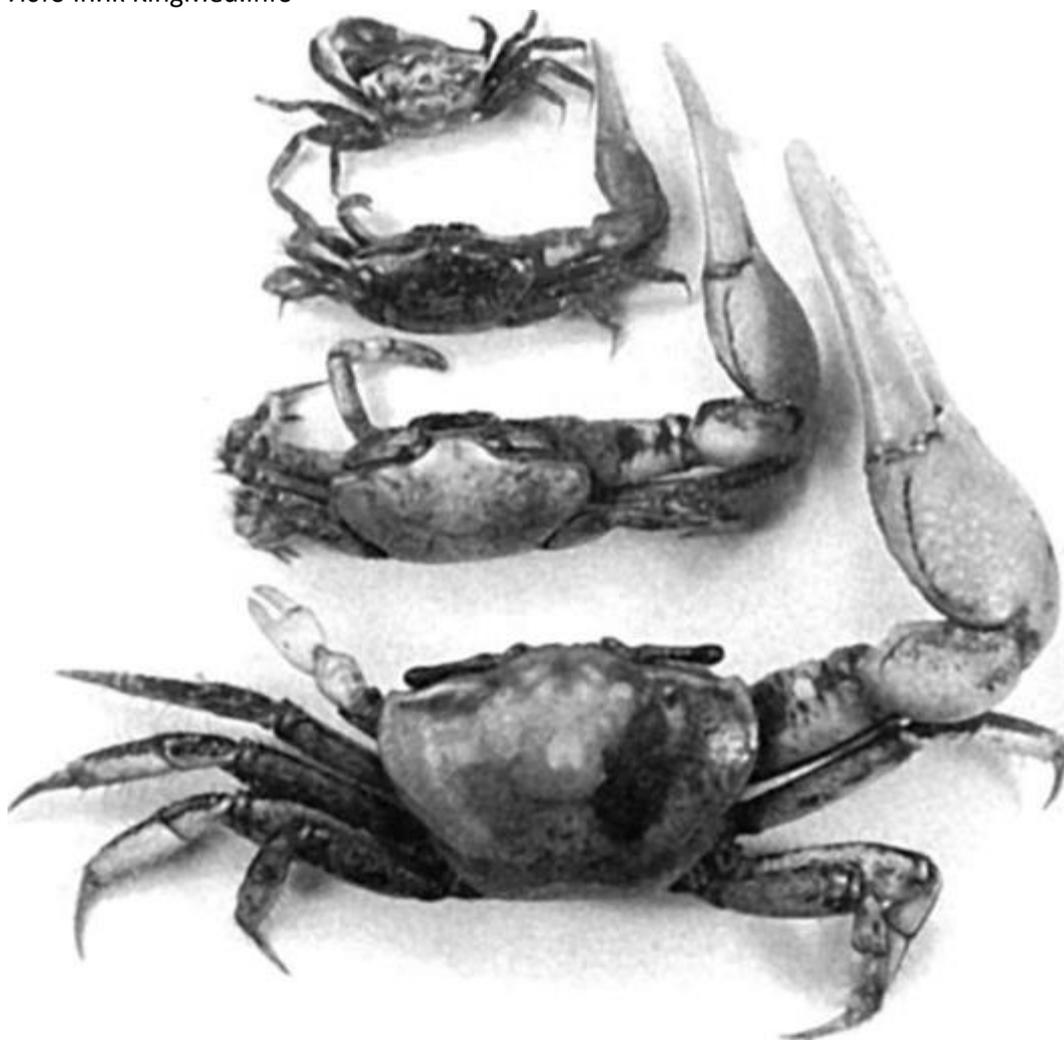


Рис. 8.68. Аллометрический рост клешни манящего краба

Для человека также характерен аллометрический рост (см. рис. 8.4). Скорость общего роста человеческого организма меняется в зависимости от стадии развития (рис. 8.69). Максимальная скорость характерна для первых четырех месяцев внутриутробного развития. Это объясняется тем, что клетки в это время продолжают делиться. По мере роста плода число митозов во всех тканях уменьшается, и принято считать, что после шести месяцев внутриутробного развития почти не происходит образования новых мышечных и нервных клеток, если не считать клеток нейроглии. Скорость роста организма в постнатальном онтогенезе постепенно снижается к четырехлетнему возрасту, затем некоторое время остается постоянной, а в возрасте 10-13 лет опять делает скачок, называемый **пубертатным скачком роста**. Это связано с периодом полового созревания.

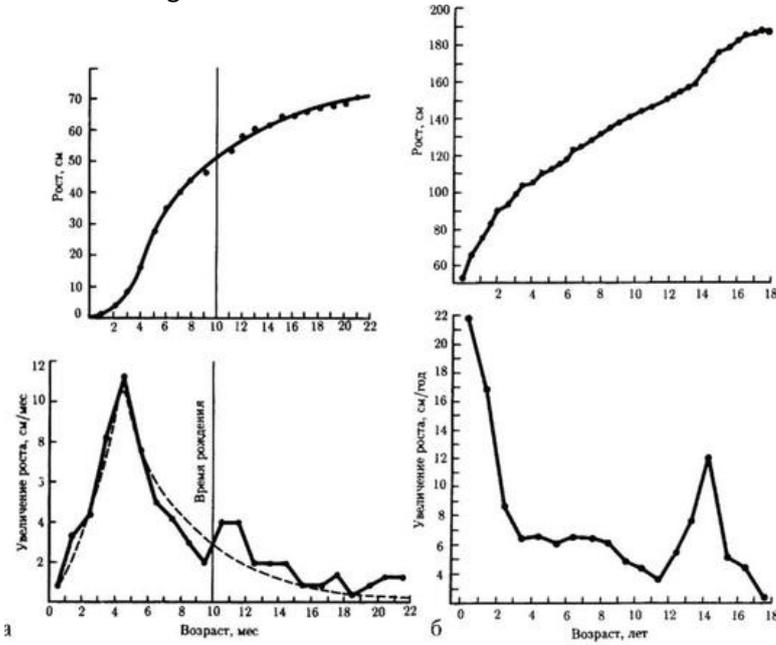


Рис. 8.69. Изменения скорости роста в зависимости от стадии развития человеческого организма: а - у плода и в первые два года после рождения; б - в начале постнатального периода

Различие в скорости роста органов и тканей показано на рис. 8.70. Кривые роста большинства скелетных и мышечных органов повторяют ход кривой общего роста. То же касается изменения размеров и отдельных органов: печени, селезенки, почек. Однако для целого ряда тканей и органов эти показатели существенно отличаются.

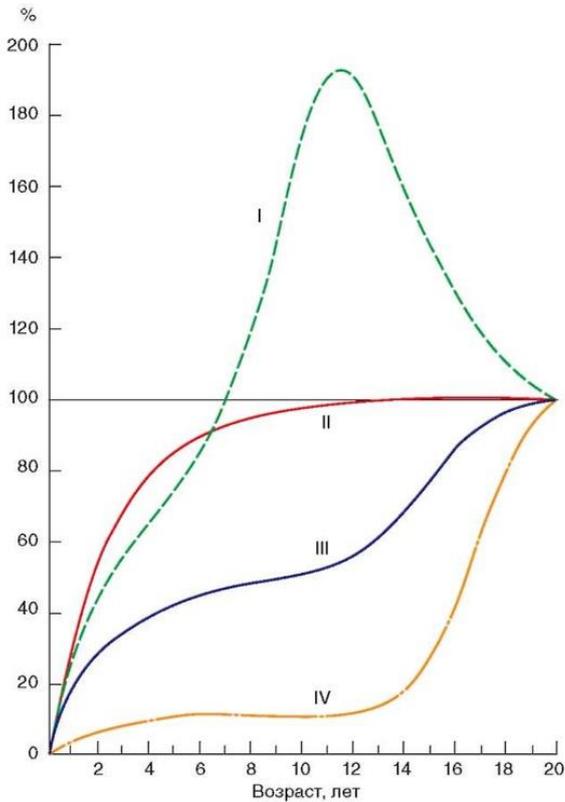


Рис. 8.70. Кривые роста отдельных органов и тканей: I - рост лимфатической ткани миндалин, червеобразного отростка, кишечника и селезенки; II - рост мозга, а также черепа, глаз и ушей; III - общая кривая роста тела и большей части других органов; IV - рост наружных и внутренних органов размножения

Источник KingMed.info

Интересна зависимость способности к росту от возрастной стадии организма. Ткани, взятые на разных стадиях развития и культивируемые в питательной среде, характеризуются различной скоростью роста. Чем старше зародыш, тем медленнее растут его ткани в культуре. Ткани, взятые от взрослого организма, растут очень медленно.

Рост - одна из составляющих онтогенеза. Он тесно связан с процессами детерминации, дифференциации и морфогенеза. Важнейшая характеристика роста, как было сказано выше, - его **дифференциальность**. Другой не менее важной особенностью является такое свойство роста, как **эквивинальность**. Это означает, что, несмотря на воздействующие факторы, особь стремится достичь типичного видового размера. Как дифференциальность, так и эквивинальность роста указывают на проявление **целостности** развивающегося организма. В процессе роста реализуются клеточные и системные механизмы развития.

В процессе развития первоначально происходит детерминация и пространственная разметка структуры, а затем ее рост. Так, у куриного зародыша разметка зачатка конечности осуществляется, когда его размер составляет всего несколько миллиметров в длину. Сначала все элементы: плечо, локтевая кость и запястье одинаковы по размеру. Затем происходит их дифференциальный рост. Программы роста уже определены, когда реализуется пространственная разметка конечности, что подтверждается экспериментами по пересадке зачатка в нейтральное место зародыша. После пересадки каждый элемент скелета следует собственной программе развития.

На рост как процесс онтогенетического развития регулирующее действие оказывают гуморальные и генетические факторы. Так, в мышцах миобласты продуцируют белок миостатин, оказывающий тормозящее влияние на рост. Мутация гена, кодирующего данный белок, приводит к значительному увеличению мышечной массы. Генетически запрограммирован размер организма и его отдельных структур. Результат доказывающего это опыта представлен на рис. 8.71. Пересадка почки конечности от саламандры более крупного вида *Ambystoma tigrinum* к



Рис. 8.71. Генетическая детерминированность размера структуры. Опыт по пересадке (пояснения в тексте)

более мелкому *Ambystoma punctatum* приводит к формированию у последнего конечности увеличенного размера. Еще одним подтверждением генетического контроля роста служит факт, что почти у каждого вида организмов есть генетические линии, характеризующиеся предельными размерами особей, такими как карликовые или, наоборот, гигантские формы.

Реализация генетической информации в значительной мере обусловлена гуморальными воздействиями, а именно действием разнообразных ростовых факторов и гормонов. Из

Источник KingMed.info

гормонов наиболее важен сомато-тропин, выделяемый гипофизом с момента рождения до подросткового периода. Гормон щитовидной железы тироксин играет очень большую роль на протяжении всего периода роста. С подросткового возраста рост контролируют стероидные гормоны надпочечников и гонад.

Пигмеи, живущие в Заире, имеют нормальный уровень гормона роста и инсулиноподобного фактора роста I до момента полового созревания, после чего уровень фактора роста у них резко снижается и становится ниже почти на треть по сравнению с нормальным уровнем, характерным для подростков.

Несомненное влияние на рост оказывают факторы среды. Наибольшее значение среди них имеют питание (рис. 8.72), время года, физическая нагрузка и психологические воздействия.

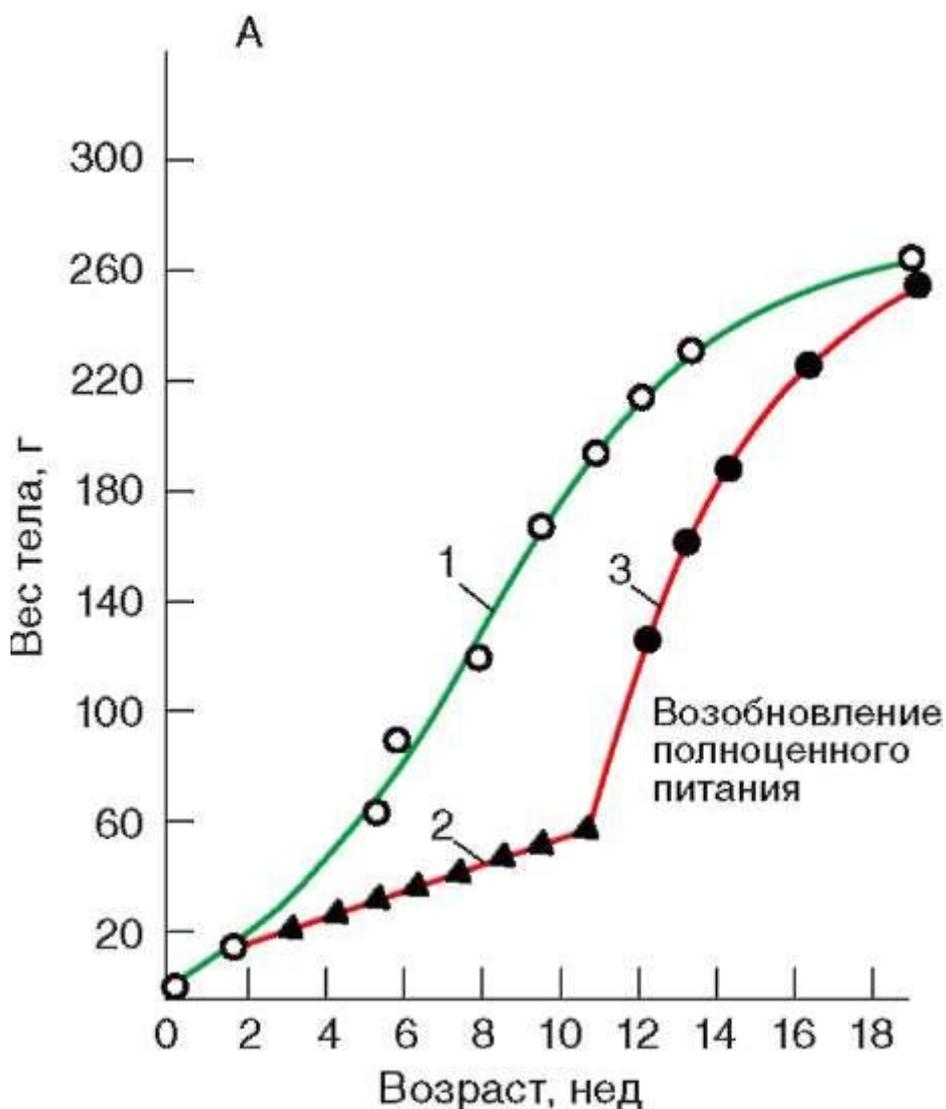


Рис. 8.72. Графики роста лабораторных крыс: 1 - S-образная кривая при нормальных условиях питания; 2 - в условиях голодания; 3 - компенсаторный рост после прекращения голодания

8.4. регенерация

Регенерация (от лат. *regeneratio* - возрождение) - процесс восстановления биологических структур в ходе жизнедеятельности организма. Регенерация поддерживает строение и функции организма, его целостность.

Источник KingMed.info

Регенерационные процессы реализуются на разных уровнях организации - молекулярно-генетическом, субклеточном, клеточном, тканевом, органном, организменном.

На молекулярно-генетическом уровне осуществляется репликация ДНК, ее репарация, синтез новых ферментов, молекул АТФ и т.д. Все эти процессы входят в обмен веществ клетки.

На субклеточном уровне происходит восстановление структур клетки за счет образования новых структурных единиц и сборки органелл или деления сохранившихся органелл. Например, подвижные образования клеточной мембраны - рецепторы, ионные каналы и насосы - могут перемещаться, концентрироваться или распределяться в составе мембраны. Помимо этого они выходят из мембраны, разрушаются и заменяются новыми. Так, в миобластах каждую минуту деградирует и заменяется новыми молекулами примерно 1 мкм² поверхности. В фоторецепторных клетках - палочках (рис. 8.73) есть наружный сегмент, состоящий примерно из тысячи так называемых фоторецепторных дисков - плотно уложенных участков клеточной мембраны, в которые погружены светочувствительные белки, связанные со зрительным пигментом. Эти диски непрерывно обновляются - деградируют на наружном конце и вновь возникают на внутреннем со скоростью 3-4 диска в час. Аналогично осуществляются процессы восстановления после повреждений. Воздействие митохондриальных ядов вызывает утрату крист митохондрий. После прекращения действия яда в печеночной клетке митохондрии восстанавливают свою структуру за 2-3 сут.

Клеточный уровень регенерации подразумевает восстановление структуры и, в некоторых случаях, функций клетки. К примерам такого рода относится восстановление отростка нервной клетки нейрона. У млекопитающих этот процесс идет со скоростью 1 мм в сутки. Восстановление функций клетки может осуществляться за счет **гиперплазии** - увеличения количества внутриклеточных органелл (внутриклеточная регенерация).

На следующем уровне - тканевом или клеточно-популяционном - происходит восполнение теряемых клеток определенного направления дифференцировки. Происходят перестройки в пределах клеточных популяций, и их результатом становится восстановление функций ткани. Так, у человека время жизни клеток кишечного эпителия - 4-5 сут, тромбоцитов - 5-7 сут, эритроцитов - 120-125 сут. Ежесекундно разрушается порядка 1 млн эритроцитов и столько же образуется в красном костном мозге вновь. Возможность восстановления утраченных клеток обеспечивается благодаря тому, что в тканях существует два клеточных компартмента. Один - дифференцированные рабочие клетки, а другой - камбиальные клетки, способные к делению и последующей дифференцировке. Эти последние в настоящее время называют региональными стволовыми клетками (см. пп. 3.1.2, 3.2). Они коммитированы, т.е. судьба их predetermined (см. п. 8.3.1), поэтому они способны дать начало одному или нескольким определенным клеточным типам. Их дальнейшая дифференцировка определяется сигналами, поступающими извне: от окружения (межклеточными взаимодействиями) и дистантными (например, гормонами), в зависимости от которых в клетках избирательно активируются конкретные гены. Так, в эпителии тонкой кишки камбиальные клетки находятся в придонных зонах крипт (рис. 8.74). При определенных воздействиях они способны дать начало клеткам «каемчатого» всасывающего эпителия и некоторым одноклеточным железам.

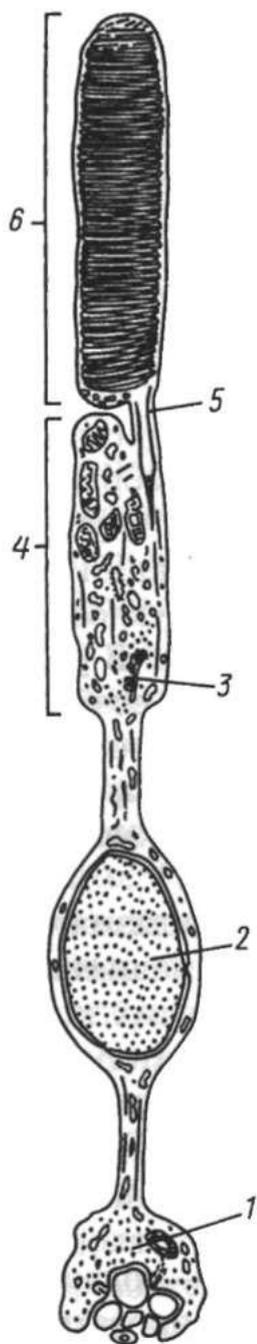


Рис. 8.73. Схематическое изображение фоторецептора сетчатки - палочки: 1 - синаптическое тельце, примыкающее к нейральному слою сетчатки, 2 - ядро, 3 - аппарат Гольджи, 4 - внутренний сегмент с митохондриями, 5 - соединительная ресничка, 6 - наружный сегмент с фоторецепторными дисками

Органный уровень регенерации предполагает восстановление функции или структуры органа. На этом уровне наблюдаются не только преобразования клеточных популяций, но также и морфогенетические процессы. При этом реализуются те же механизмы, что и при формировании органов в эмбриогенезе. Та-

кая регенерация может осуществляться путем **эпиморфоза, морфолаксиса, регенерационной гипертрофии**. Эти

способы и механизмы регенерации обсуждаются далее.

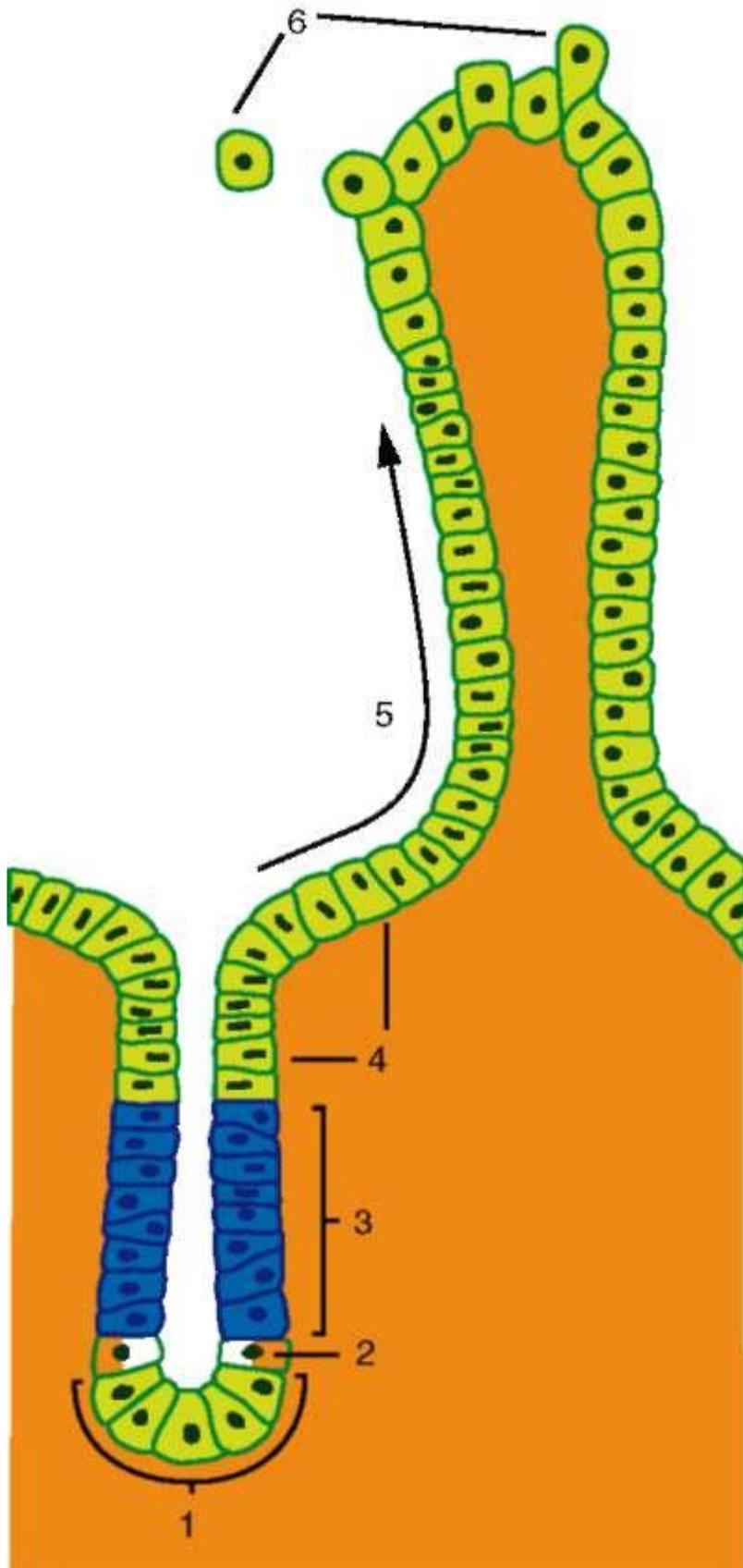


Рис. 8.74. Локализация региональных стволовых клеток в эпителии тонкой кишки: 1 - неделящиеся клетки; 2 - делящиеся стволовые клетки; 3 - быстро делящиеся клетки; 4 - неделящиеся дифференцированные клетки; 5 - направление перемещения клеток; 6 - клетки, слущенные с поверхности кишечной ворсины

Источник KingMed.info

На организменном уровне возможно в отдельных случаях воссоздание целостного организма из одной или группы клеток.

Различают два вида регенерации: **физиологическую** и **репаративную**.

Физиологическая (гомеостатическая) регенерация представляет собой процесс восстановления структур, которые снашиваются в процессе нормальной жизнедеятельности. Благодаря ей поддерживается структурный гомеостаз и обеспечивается возможность постоянного выполнения органами их функций.

С общебиологической точки зрения физиологическая регенерация, как и обмен веществ, является проявлением такого важнейшего свойства жизни, как самообновление.

Самообновление обеспечивает существование организма во времени и пространстве. В его основе лежит биогенная миграция атомов.

На внутриклеточном уровне значение физиологической регенерации особенно велико для так называемых «вечных» тканей, утративших способность к регенерации путем деления клеток. В первую очередь это относится к нервной ткани, сетчатке глаза.

На клеточном и тканевом уровнях осуществляется физиологическая регенерация в «лабильных» тканях, где интенсивность клеточного обновления очень велика, и в «растущих» тканях, клетки которых обновляются значительно медленнее. К первой группе относятся, например, роговица глаза, эпителий слизистой оболочки кишечника, клетки периферической крови, эпидермис кожи и его производные - волосы и ногти. Клетки таких органов, как печень, почка, надпочечник составляют вторую из указанных групп.

Об интенсивности пролиферации судят по числу митозов, приходящихся на 1000 подсчитанных клеток. Если учесть, что сам митоз в среднем длится около 1 ч, а весь митотический цикл в соматических клетках в среднем протекает 22-24 ч, становится ясно, что для определения интенсивности обновления клеточного состава тканей необходимо подсчитать число митозов в течение одних или нескольких суток. Оказалось, что число делящихся клеток не одинаково в разные часы суток. Так был открыт суточный ритм клеточных делений, пример которого изображен на рис. 8.75.

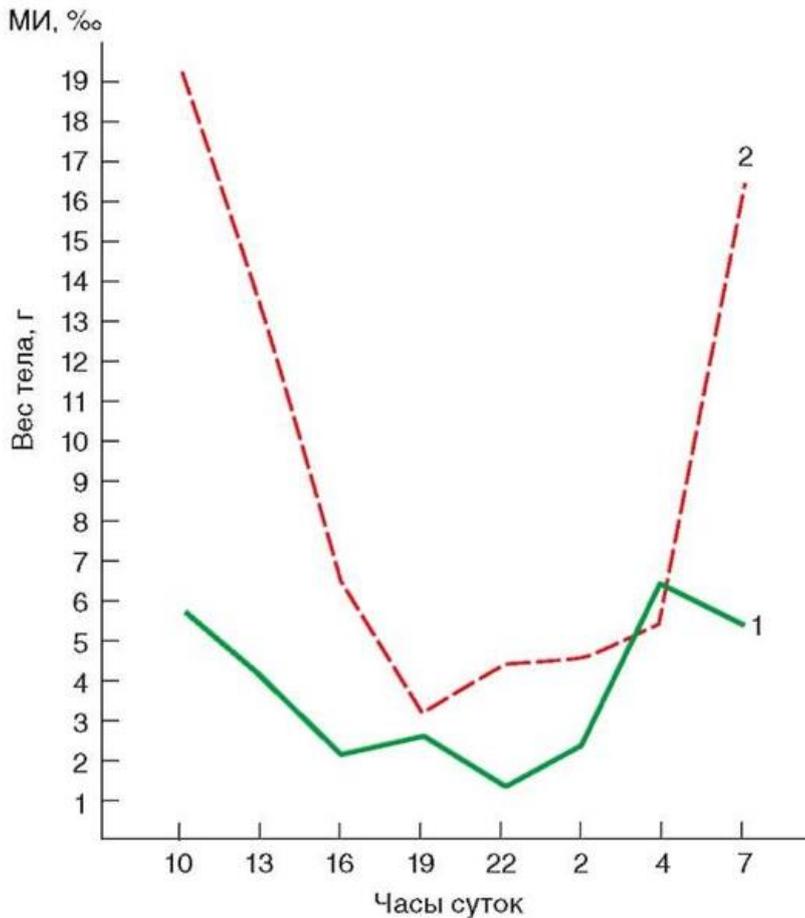


Рис. 8.75. Суточные изменения митотического индекса (МИ) в эпителии пищевода (1) и роговицы (2) мышей. Митотический индекс выражен в промилле (‰), отражающем число митозов в тысяче подсчитанных клеток

Суточный ритм числа митозов обнаружен не только в нормальных, но и в опухолевых тканях. Он отражает более общую закономерность, а именно, ритмичность всех функций организма. Одна из современных областей биологии - **хронобиология** - изучает, в частности, механизмы регуляции суточных ритмов митотической активности, что имеет весьма большое значение для медицины. Существование самой суточной периодичности числа митозов указывает на регулируемость физиологической регенерации организмом. Кроме суточных, существуют лунные и годовые циклы обновления тканей и органов.

Физиологическая регенерация присуща организмам всех видов, но особенно интенсивно она протекает у теплокровных позвоночных, так как у них вообще очень высока интенсивность функционирования всех органов по сравнению с другими животными.

Репаративная регенерация (от лат. *reparatio* - восстановление) - восстановление биологических структур после травм и действия других повреждающих факторов. К таким факторам могут быть отнесены ядовитые вещества, болезнетворные агенты, высокие и низкие температуры (ожоги и обморожения), лучевые воздействия, голодание и т.д.

Способность к регенерации не имеет однозначной зависимости от уровня организации, хотя давно уже было замечено, что более низко организованные животные обладают лучшей способностью к регенерации наружных органов. Это подтверждается удивительными примерами регенерации гидры, планарий, кольчатых червей, членистоногих, иглокожих, низших хордовых, например асцидий. Из позвоночных наилучшей регенерационной способностью

Источник KingMed.info

обладают хвостатые земноводные. Известно, что разные виды одного и того же класса могут сильно отличаться по способности к регенерации. Кроме того, при изучении способности к регенерации внутренних органов оказалось, что она значительно выше у теплокровных животных, например у млекопитающих, по сравнению с земноводными.

Регенерация у млекопитающих отличается своеобразием. Для регенерации некоторых наружных органов нужны особые условия. Язык, ухо, например, не регенерируют при краевом повреждении (фактически речь идет об ампутации краевой части структуры). Если же нанести сквозной дефект через всю толщу органа, восстановление идет хорошо. Регенерация внутренних органов может идти очень активно. Из небольшого фрагмента яичника восстанавливается целый орган. Есть предположение, что невозможность регенерации конечностей и других наружных органов у млекопитающих носит приспособительный характер и обусловлена отбором, поскольку при активном образе жизни требующие сложной регуляции морфогенетические процессы затрудняли бы существование. Ряд исследователей полагает, что организмы первоначально имели два способа исцеления от ран - действие иммунной системы и регенерацию. Но в ходе эволюции они стали несовместимы друг с другом. Хотя регенерация может показаться лучшим выбором, для нас более важны Т-клетки иммунной системы - основное оружие против опухолей. Регенерация конечности становится бессмысленной, если одновременно в организме бурно развиваются раковые клетки. Получается, что иммунная система, защищая нас от инфекций и рака, одновременно подавляет наши способности к восстановлению.

Объем репаративной регенерации может быть очень разным.

Крайний вариант - восстановление целого организма из отдельной малой его части, фактически из группы соматических клеток. Среди животных такое восстановление возможно у губок и кишечнополостных. Регенерацию гидры можно осуществить из группы клеток, полученных при продавливании ее через сито. Среди растений возможно развитие целого нового растения даже из одной соматической клетки, как это получено на примере моркови и табака. Такой вид восстановительных процессов сопровождается возникновением новой морфогенетической оси организма и назван Б.П. Токиным «соматическим эмбриогенезом», так как во многом напоминает эмбриональное развитие. В качестве подобного варианта регенерации может рассматриваться клонирование в эксперименте целого организма из одной соматической клетки у млекопитающих.

Следующий по объему вариант - восстановление больших участков организма, состоящих из комплекса органов. Примером служит регенерация у гидры, ресничного червя (планарии), морской звезды (рис. 8.76). При удалении части животного из оставшегося фрагмента, даже очень небольшого, возможно восстановление полноценного организма. Например, восстановление морской звезды из сохранившегося луча.

Далее в этом ряду следует регенерация отдельных органов, которая широко распространена в животном царстве, например, хвоста у ящерицы, глаз у членистоногих, глаза, конечности, хвоста у тритона.

Заживление кожных покровов, ран, повреждений костей и других внутренних органов - наименее объемный процесс, но не менее важный для восстановления структурно-функциональной целостности организма.

Источник KingMed.info

Существует несколько способов репаративной регенерации. К ним относят эпиморфоз, морфаллаксис, регенерационную гипертрофию, компенсаторную гипертрофию, заживление эпителиальных ран, тканевую регенерацию.

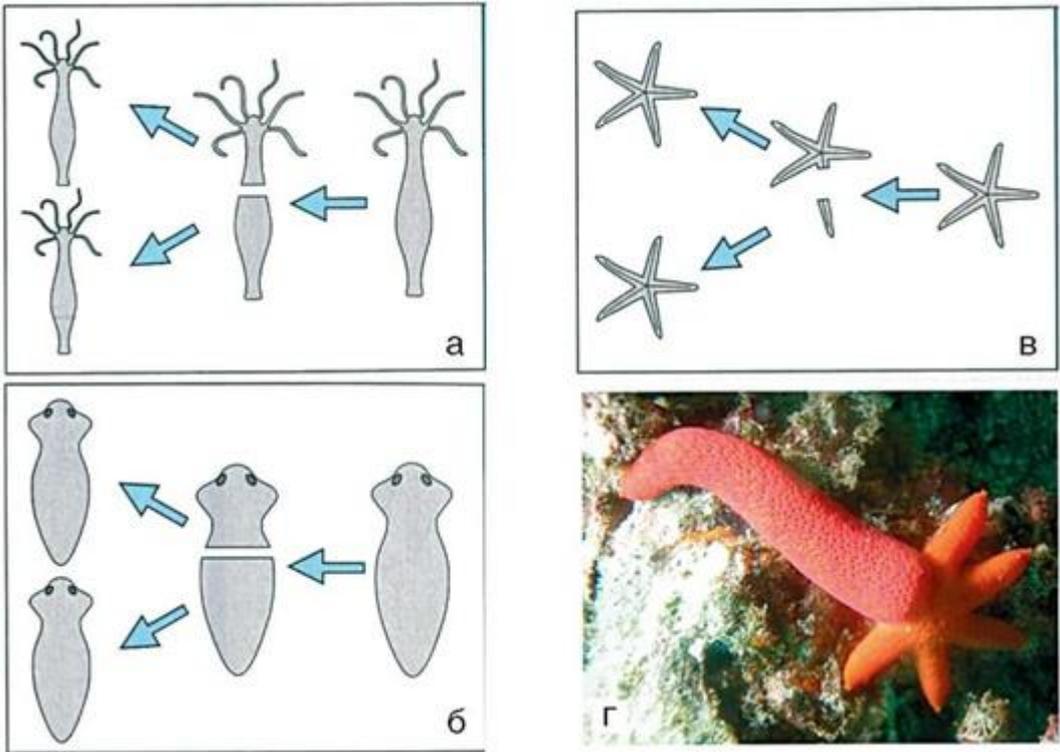


Рис. 8.76. Регенерация комплекса органов у некоторых видов беспозвоночных животных: а - гидра; б - плоский червь; в - морская звезда; г - восстановление морской звезды из луча

Эпиморфоз представляет собой наиболее очевидный способ регенерации, заключающийся в отрастании нового органа от ампутированной поверхности. Иллюстрацией может служить регенерация хрусталика или конечности у хвостатых амфибий (рис. 8.77). Рассмотрим более детально процесс регенерации на примере эпиморфоза конечности тритона. В процессе восстановления выделяют регрессивную и прогрессивную фазы регенерации. Регрессивная фаза начинается с заживления раны, во время которого происходят следующие основные события: остановка кровотечения, сокращение мягких тканей культи конечности, образование над раневой поверхностью сгустка фибрина и миграция эпидермиса, покрывающего ампутированную поверхность.

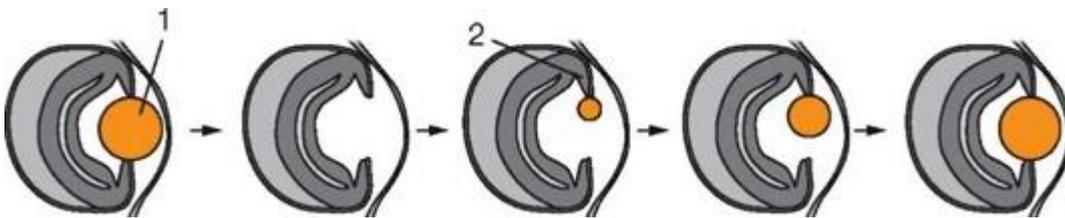


Рис. 8.77. Регенерация хрусталика (1) из дорзальной радужки (2) у тритона

Затем начинается разрушение тканей непосредственно проксимальнее места ампутации. Одновременно в разрушенные мягкие ткани проникают клетки, участвующие в воспалительном процессе, наблюдается фагоцитоз и местный отек. Вслед за этим в области под раневым эпидермисом начинается дедифференцировка специализированных клеток: мышечных, костных, хрящевых и т.д. Клетки приобретают черты мезенхимных, образуют скопление и формируют **регенерационную бластему** (рис. 8.78). В это же время раневой эпидермис быстро

Источник KingMed.info

утолщается и образует **апикальную эктодермальную шапочку**. На этом этапе в регенерационную бластему и эктодермальную шапочку врастают сосуды и нервные волокна.

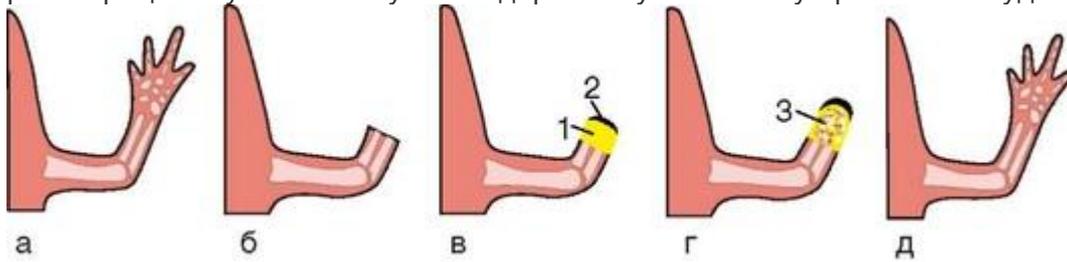


Рис. 8.78. Регенерация конечности у тритона: а - нормальная конечность, б - ампутация; в - формирование апикальной шапочки и бластемы; г - редифференцировка клеток; д - вновь сформированная конечность. 1 - бластема; 2 - апикальная эктодермальная шапочка; 3 - редифференцировка клеток бластемы (пояснения в тексте)

Далее начинается прогрессивная фаза, для которой наиболее характерны процессы роста и морфогенеза. Длина и масса регенерационной бластемы быстро увеличиваются. Она приобретает коническую форму. Мезенхимные клетки бластемы дедифференцируются, давая начало всем специализированным клеточным типам, которые необходимы для формирования структур конечности. Осуществляется рост конечности и ее морфогенез (формообразование). Когда форма конечности в общих чертах уже сложилась, регенерат все еще меньше нормальной конечности. Чем крупнее животное, тем больше эта разница в размерах. Для завершения морфогенеза требуется время, по истечении которого регенерат достигает размеров нормальной конечности.

Некоторые стадии восстановления передней конечности у тритона после ампутации на уровне плеча показаны на рис. 8.79.

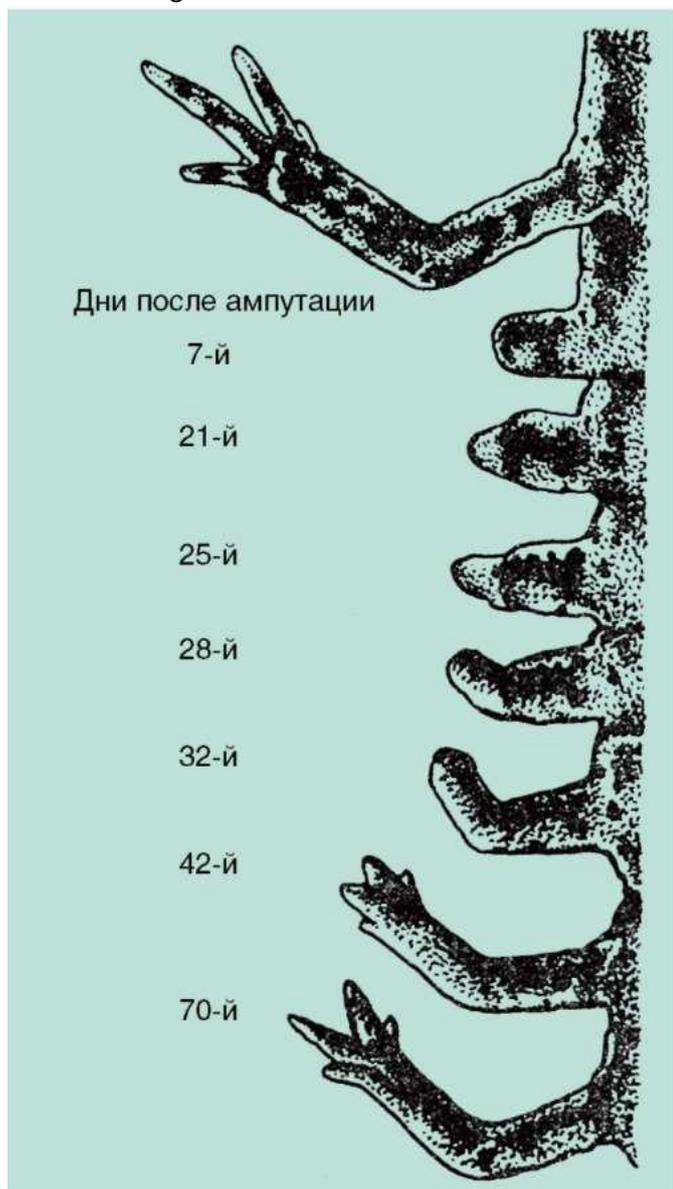


Рис. 8.79. Регенерация передней конечности у тритона в эксперименте

У молодых личинок аксолотлей конечность может регенерировать за 3 нед, у взрослых тритонов и аксолотлей - за 1-2 мес, а у наземных амбистом для этого требуется около 1 года.

Морфаллаксис - регенерация путем перестройки регенерирующего участка. Примером служит регенерация гидры из кольца, вырезанного из середины ее тела, или восстановление планарии из одной десятой или двадцатой ее части. На раневой поверхности в этом случае не происходит значительных формообразовательных процессов. Отрезанный кусочек сжимается, клетки внутри него перестраиваются, и возникает целая особь уменьшенных размеров, которая затем растет. Этот способ регенерации впервые описал Т. Морган в 1900 г. В соответствии с его описанием, морфаллаксис осуществляется без митозов. Нередко имеет место сочетание эпиморфного роста на месте ампутации с реорганизацией путем морфаллаксиса в прилежащих частях тела.

Регенерационная гипертрофия (эндоморфоз) относится к внутренним органам. Этот способ регенерации заключается в увеличении размеров остатка органа без восстановления исходной формы. Иллюстрацией служит регенерация печени позвоночных, в том числе млекопитающих. При краевом ранении печени удаленная часть органа никогда не восстанавливается. Раневая поверхность заживает. В то же время внутри оставшейся части усиливается размножение клеток

Источник KingMed.info

(гиперплазия) и даже после удаления 2/3 печени восстанавливаются исходные масса и объем, но не форма. Внутренняя структура печени оказывается нормальной, дольки имеют типичную для них величину. Функция печени также возвращается к норме.

Компенсаторная (викарная) гипертрофия заключается в изменениях в одном из органов при нарушении в другом, относящемся к той же системе органов. Пример - гипертрофия в одной из почек при удалении другой или увеличение лимфатических узлов при удалении селезенки.

Изменения способности к такого типа регенерации в зависимости от возраста показаны на рис. 8.80.

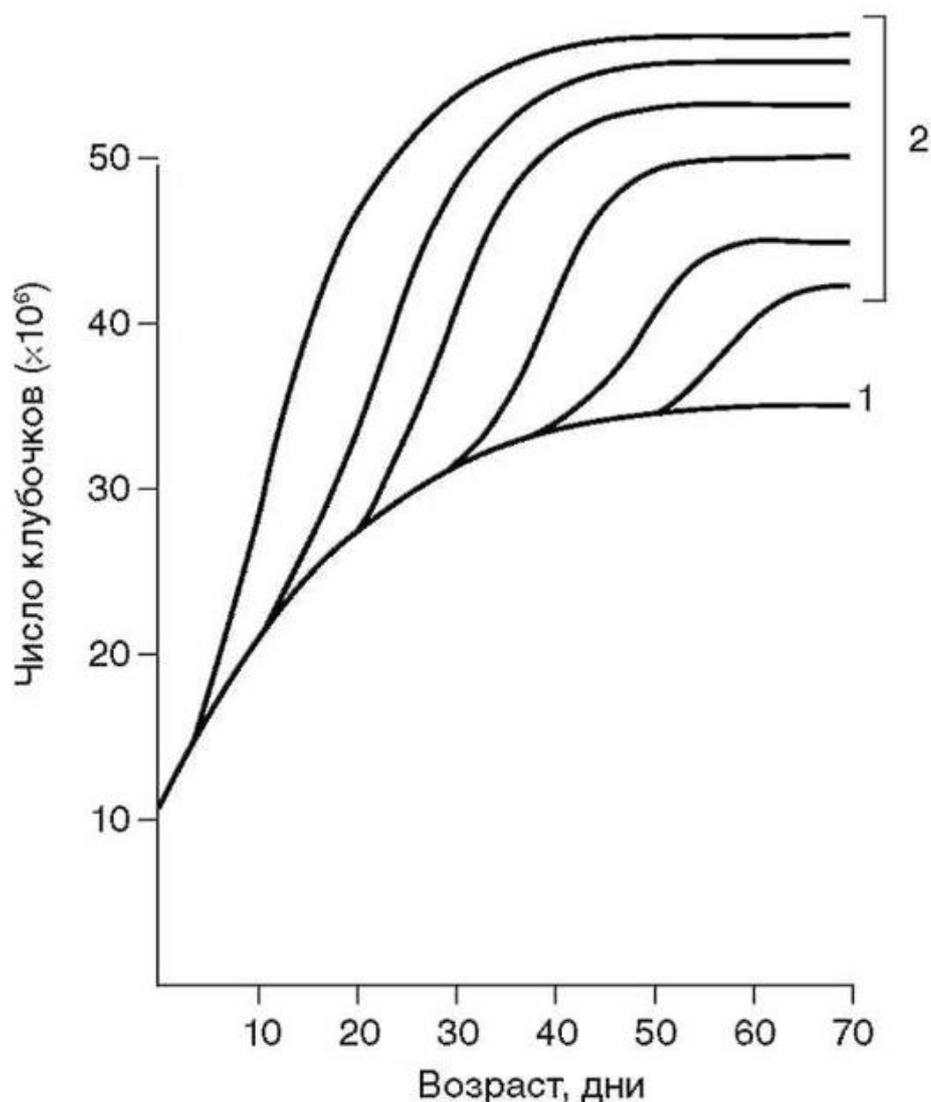


Рис. 8.80. Влияние возраста на увеличение числа клубочков нефронов после удаления одной почки у крыс вскоре после рождения: 1 - кривая прироста числа клубочков в нормальном постнатальном развитии в одной почке; 2 - кривые увеличения числа вновь образуемых клубочков после удаления почки на разных сроках онтогенеза

Последние два способа отличаются местом регенерации, но механизмы их одинаковы: гиперплазия и гипертрофия (рис. 8.81)¹.

¹ **Гипертрофия** (греч. *hyper-* + *trophē* - пища, питание) - увеличение объема и массы органа тела или отдельной его части. **Гиперплазия** (греч. *hyper-* + *plasis* - образование, формирование) - увеличение числа структурных элементов тканей путем их избыточного новообразования. Это не

только размножение клеток, но и увеличение цитоплазматических ультраструктур (изменяются в первую очередь митохондрии, миофиламенты, эндоплазматический ретикулум, рибосомы).

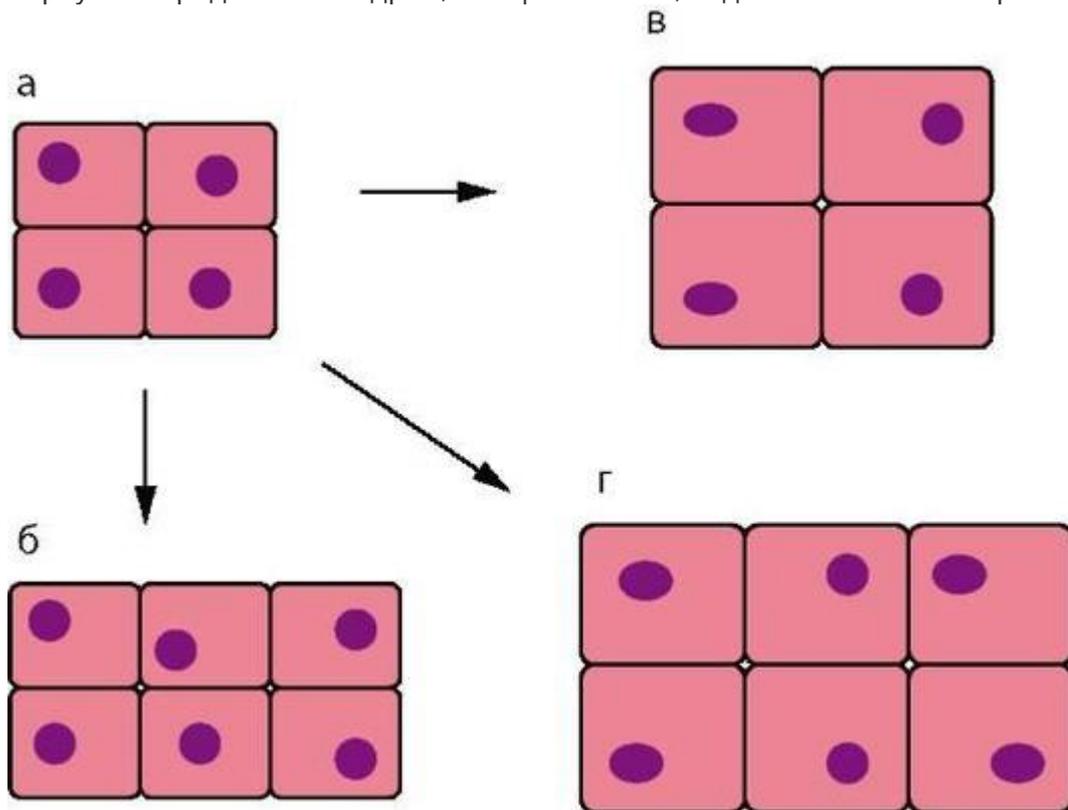


Рис. 8.81. Схема, иллюстрирующая механизмы гипертрофии и гиперплазии: а - норма; б - гиперплазия; в - гипертрофия; г - комбинированное изменение

Эпителизация при заживлении ран с нарушенным эпителиальным покровом идет примерно одинаково, независимо от того, будет далее происходить регенерация органа путем эпиморфоза или нет. Эпидермальное заживление раны у млекопитающих в том случае, когда раневая поверхность высыхает с образованием корки, проходит следующим образом (рис. 8.82). Эпителий на краю раны утолщается вследствие увеличения объема клеток и расширения межклеточных пространств. Сгусток фибрина играет роль субстрата для миграции эпидермиса в глубь раны. В мигрирующих эпителиальных клетках нет митозов, однако они обладают фагоцитарной активностью. Клетки с противоположных краев вступают в контакт.

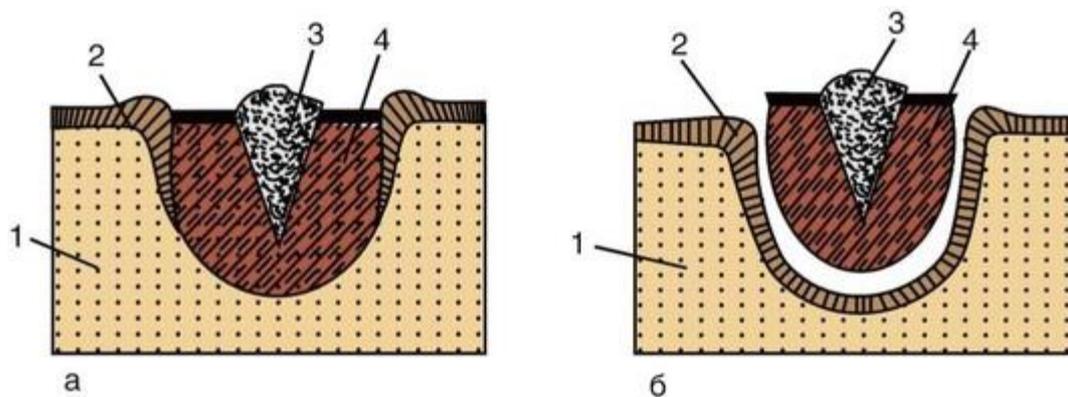


Рис. 8.82. Схема некоторых событий, происходящих при эпителизации кожной раны у млекопитающих: а - начало врастания эпидермиса под некротическую ткань, б - срастание эпидермиса и отделение струпа; 1 - соединительная ткань; 2 - эпидермис; 3 - струп; 4 - некротическая ткань

Источник KingMed.info

Затем наступает кератинизация раневого эпидермиса и отделение корки, покрывающей рану. К моменту встречи эпидермиса противоположных краев в клетках, расположенных непосредственно вокруг края раны, наблюдается вспышка митозов, которая затем постепенно угасает.

Восстановление отдельных мезодермальных тканей, таких как мышечная и скелетная, называют **тканевой регенерацией**. Для регенерации мышцы важно сохранение хотя бы небольших ее культей на обоих концах, а для регенерации кости необходима надкостница.

Таким образом, существует множество различных способов или типов морфогенетических явлений при восстановлении утраченных и поврежденных частей организма. Различия между ними не всегда очевидны, и требуется более глубокое понимание этих процессов.

При регенерации не всегда образуется точная копия удаленной структуры. В случае **типичной** регенерации восстанавливается утраченная часть правильной структуры (**гомоморфоз**), чего не происходит при **атипичной** регенерации. Примером последней является появление иной структуры на месте утраченной - **гетероморфоз**. Она может проявляться в виде **гомеозисной** регенерации, заключающейся в появлении антенны или конечности на месте глаза у членистоногих. Еще один вариант - **гипоморфоз**, регенерация с частичным замещением ампутированной структуры. Например, у ящерицы возникает шиловидная структура вместо конечности (рис. 8.83).

К атипичной регенерации могут быть отнесены случаи **изменения полярности** структуры. Так, из короткого фрагмента планарии можно стабильно получать биполярную планарию. Встречается образование дополнительных структур, или избыточная регенерация. После надреза культи при ампутации головного отдела планарии возникает регенерация двух голов или более (рис. 8.84).

Изучение регенерации касается не только внешних проявлений. Существует целый ряд аспектов, носящих проблемный и теоретический характер. К ним относятся вопросы регуляции и условий, в которых протекают восстановительные процессы, вопросы происхождения клеток, участвующих в регенерации, способности к регенерации у различных групп животных и особенностей восстановительных процессов у млекопитающих.

Установлено, что при регенерации происходят такие процессы, как детерминация, дифференцировка и дифференциация, рост, морфоген-

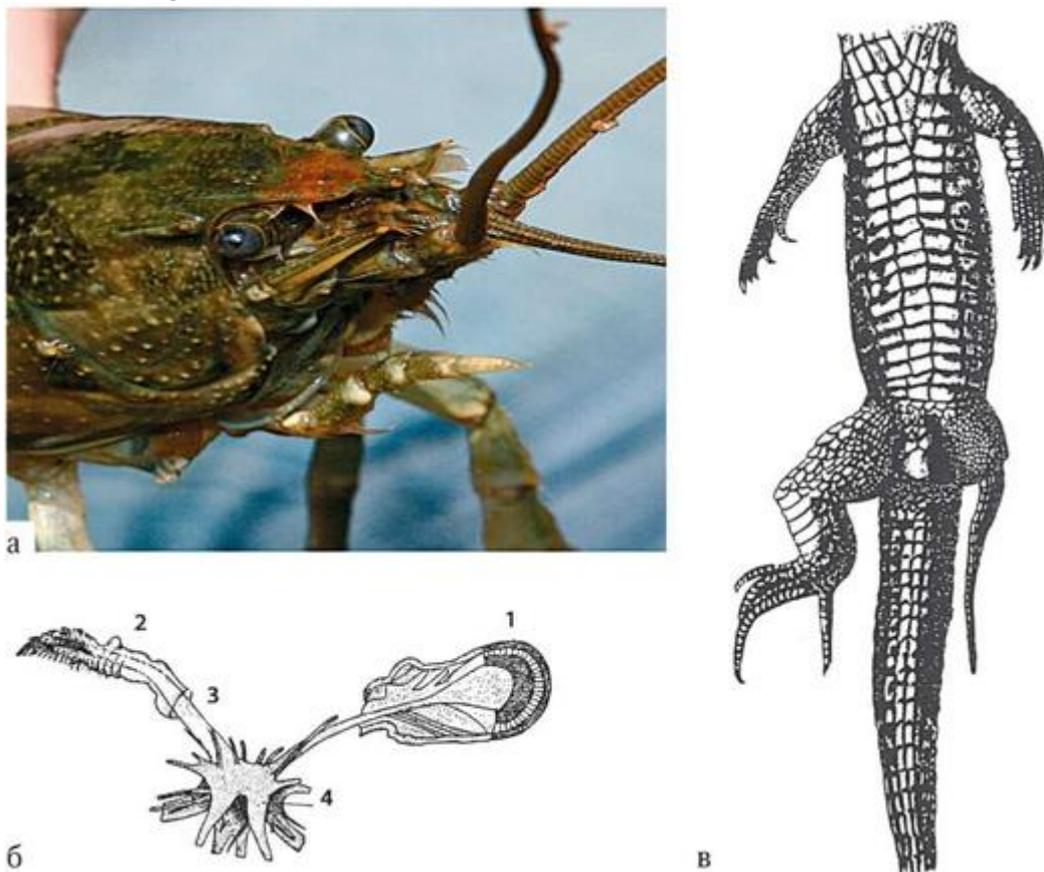


Рис. 8.83. Примеры атипичной регенерации: а - нормальная голова рака; б - формирование антенны вместо глаза; в - образование шиловидной структуры вместо конечности у саламандры. 1 - глаз; 2 - антенна; 3 - место ампутации; 4 - нервный ганглий

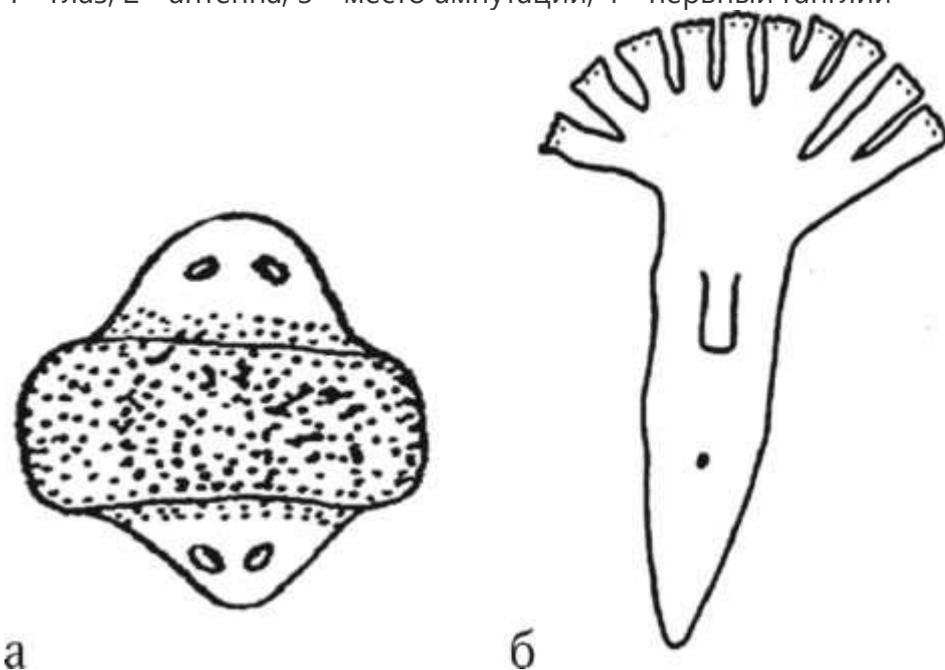


Рис. 8.84. Примеры атипичной регенерации: а - биполярная планария; б - многоголовая планария, полученная после ампутации головы и нанесения насечек на культю

нез, сходные с процессами, имеющими место в эмбриональном развитии. Данные, полученные к настоящему времени, указывают на то, что восстановление утраченных структур, по сути дела, осуществляется на основе той же самой **программы развития**, которая руководит

Источник KingMed.info

формированием их у эмбриона, и на основе клеточных и системных механизмов развития. Однако при регенерации все процессы развития идут уже вторично, т.е. в сформированном организме, поэтому восстановление структур имеет ряд отличий и специфических черт.

Несомненно, что в ходе регенерации большое значение принадлежит системным механизмам - межклеточным и межзачатковым взаимодействиям, нервной и гуморальной регуляции. Так, при эпиморфозе конечности тритона сформированный в ходе эпителизации эпидермис стимулирует лизис подлежащих мезодермальных тканей. В его отсутствие или при образовании шрама регенерации не происходит. Клетки под сформированным эпидермисом дедифференцируются и формируют бластему. На этом этапе наблюдаются реципрокные индуктивные влияния между эпидермисом, который формирует апикальную эктодермальную шапочку, и мезодермальной бластемой. В ходе эмбрионального развития при формировании конечности осуществлялись сходные взаимодействия между мезодермальной почкой конечности и апикальным эктодермальным гребнем.

В ходе дедифференцировки в клетках подавляется активность типоспецифических генов, определяющих специализацию клетки, например генов *MRF* и *Mif5* в мышечных волокнах. Затем активируются гены, необходимые для пролиферации клеток. Один из них *msx1*. На этой стадии растущие в бластему нервные отростки и эпидермис продуцируют трофические и ростовые факторы, необходимые для пролиферации и выживания клеток бластемы. Среди них фактор роста фибробластов *FGF-10*. Этот же фактор необходим для пролиферации самого эпидермиса. Бластема, в свою очередь, синтезирует в ответ нейротрофические факторы, стимулирующие вращение нервов. Нервы нужны для формирования апикальной эктодермальной шапочки. Помимо этого бластема, так же как и апикальная эпидермальная шапочка, продуцирует *FGF-8*, который стимулирует вращение капилляров.

Следует отметить наблюдаемые на этой стадии различия между регенерацией и эмбриональным развитием. Для реализации регенерации необходима иннервация. Без нее может проходить дедифференцировка клеток, но последующее развитие отсутствует. В период эмбрионального морфогенеза конечности (в ходе клеточных дифференцировок) нервы еще не сформированы.

Помимо иннервации на ранней стадии регенерации требуется действие ферментов металлопротеиназ. Они разрушают компоненты матрикса, что позволяет клеткам разделиться (диссоциировать) и активно пролиферировать. Контактующие между собой клетки не могут продолжать регенерацию и отвечать на действие ростовых факторов. Таким образом, в ходе регенерации наблюдаются все варианты межклеточных взаимодействий: путем выделения паракринных факторов, диффундирующих от одной клетки к другой, взаимодействия через матрикс и при непосредственном контакте клеточных поверхностей.

В стадии дедифференцировки в клетках культуры экспрессируются гомеозисные гены *HoxD8* и *HoxD10*, а с началом дифференцировки - гены *HoxD9* и *HoxD13*. Как было показано в п. 8.3.4, эти же гены активно транскрибируются и в эмбриональном морфогенезе конечности.

Важно отметить, что в ходе регенерации утрачивается дифференцировка клеток, а их детерминация сохраняется. Уже на стадии недифференцированной бластемы закладываются основные черты регенерирующей конечности. При этом не требуется активация генов, обеспечивающих спецификацию конечности (*Tbx-5* для передней и *Tbx-4* для задней). Конечность формируется в зависимости от локализации бластемы. Ее развитие происходит так же, как и в эмбриогенезе: сначала проксимальные отделы, а затем дистальные.

Проксимально-дистальный градиент, от которого зависит, какие части растущего зачатка станут плечом, какие - предплечьем, а какие - кистью, задается градиентом белка *Prod 1*. Он локализован на поверхности клеток бластемы и его концентрация выше у основания конечности. Этот белок играет роль рецептора, а сигнальной молекулой (лигандом) для него является белок *nAG*. Он синтезируется шванновскими клетками, окружающими регенерирующий нерв. При отсутствии этого белка, который через лиганд-рецепторное взаимодействие запускает активацию необходимого для развития каскада генов, регенерации не происходит. Это объясняет феномен отсутствия восстановления конечности при перерезке нерва, а также и при вращении в бластему недостаточного количества нервных волокон. Интересно, что если нерв конечности тритона отвести под кожу основания конечности, то образуется дополнительная конечность. Если его отвести к основанию хвоста - стимулируется образование дополнительного хвоста. Отведение нерва на боковую область никаких дополнительных структур не вызывает. Все это привело к созданию концепции **регенерационных полей**.

Аналогично процессу эмбриогенеза формируется и переднезадняя ось в поле развивающейся конечности. В формирующемся зачатке появляется зона поляризующей активности, определяющая асимметрию конечности. Повернув конец культы конечности на 180°, можно получить конечность с зеркальным удвоением пальцев (рис. 8.85).

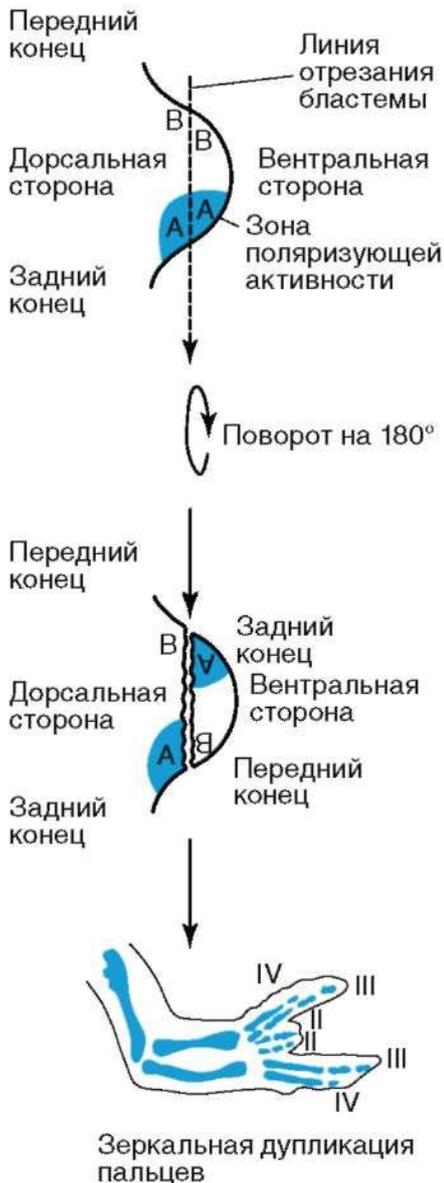


Рис. 8.85. Эксперимент с поворотом бластемы конечности (пояснения в тексте)

Таким образом, справедливо утверждение, что формирование конечности происходит в поле органа, а бластема является саморегулирующейся системой. Наряду с вышесказанным, доказательством этому служат результаты, полученные в серии экспериментов по пересадке бластемы передней конечности на бластему середины бедра (рис. 8.86). При пересадке в регенерационное поле другой конечности трансплантат располагается в соответствии с полученной позиционной информацией (градиенты веществ): бластема плеча смещается к середине бедра, предплечья - к голени, запястья - к лапке. Развитие трансплантированной бластемы в соответствующую часть передней конечности происходит в соответствии с ее детерминацией, которая определяется уровнем ампутации.

Помимо межклеточных и индукционных взаимодействий, которые оказываются менее разнообразными, чем в ходе эмбрионального морфогенеза, на регенерацию значительное влияние оказывает нервная и гуморальная регуляция. Это вполне объяснимо тем, что регенерация осуществляется в уже сформированном организме, где основными регулирующими механизмами являются именно последние. Среди гуморальных влияний следует остановиться на действии гормонов. Альдостерон, гормоны щитовидной железы и гипофиза оказывают стимулирующее влияние на восстановление утраченных

Источник KingMed.info

структур. Сходное действие имеют и метаболиты, выделяемые поврежденной тканью и транспортируемые плазмой крови или передающиеся через межклеточную жидкость. Именно поэтому дополнительное повреждение в некоторых случаях ускоряет процесс регенерации.

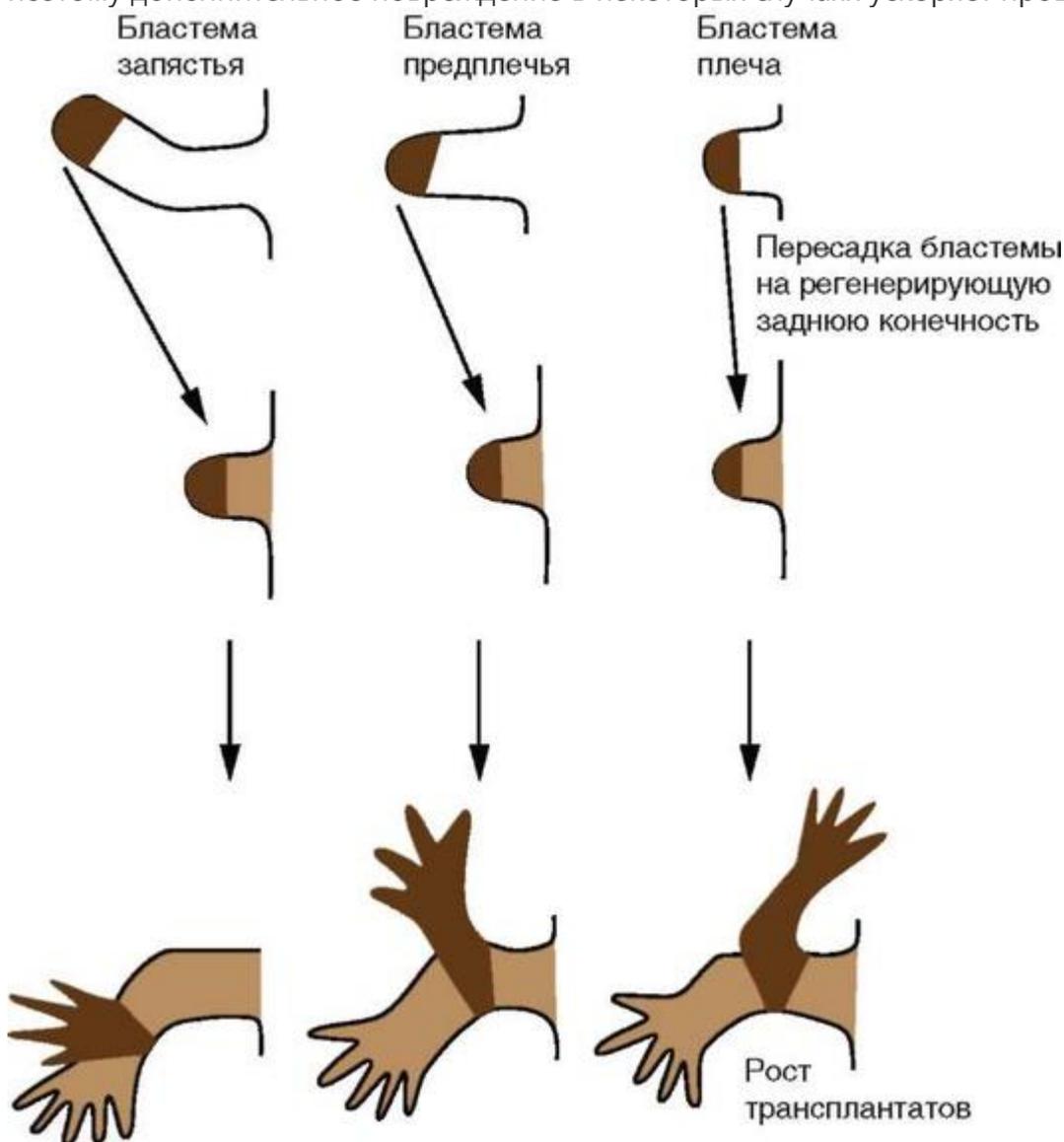


Рис. 8.86. Опыты по пересадке бластемы передней конечности в поле задней (пояснения в тексте)

Помимо перечисленного на регенерацию оказывают влияние и другие факторы, среди которых температура, при которой происходит восстановление, возраст животного, функционирование органа, стимулирующее регенерацию, и в определенных ситуациях изменение электрического заряда в регенерате.

Установлено, что в конечности амфибий после ампутации и в процессе регенерации происходят реальные изменения электрической активности. При проведении электрического тока через ампутированную конечность у взрослых шпорцевых лягушек наблюдается усиление регенерации передних конечностей. В регенератах увеличивается количество нервной ткани, из чего делается вывод, что электрический ток стимулирует врастание нервов в края конечностей, в норме не регенерирующих.

Попытки стимулировать подобным образом восстановление конечностей у млекопитающих оказались безуспешными. Под действием электрического тока или при сочетании действия

Источник KingMed.info

электрического тока с фактором роста нервов удавалось получить у крысы только разрастание скелетной ткани в виде хрящевых и костных мозолей, которые не походили на нормальные элементы скелета конечностей.

Один из наиболее интригующих в теории регенерации - вопрос об ее клеточных источниках. Откуда берутся или как возникают недифференцированные клетки бластемы, морфологически сходные с мезенхимными?

В настоящее время говорят о трех возможных **источниках регенерации**. Первый - это **дедифференцированные клетки**, второй - **региональные стволовые клетки** и третий - **стволовые клетки из других структур**, мигрировавшие к месту регенерации.

Большинство исследователей признают дедифференцировку и метаплазию при регенерации хрусталика у амфибий. Теоретическое значение этой проблемы заключается в допущении возможности или невозможности изменений клеткой ее программы до такой степени, что она возвращается в состояние, когда снова способна делиться и репро-граммировать свой синтетический аппарат.

Наличие региональных стволовых клеток установлено к настоящему времени во многих тканях: в мышцах, кости, эпидермисе кожи, печени, сетчатке и других. Такие клетки обнаружены даже в нервной ткани - в определенных зонах головного мозга. Во многих случаях считают, что источником, из которого образуются дифференцированные клетки в ходе регенерации, являются именно они (регенеративная медицина, регенеративная ветеринария). Предполагается, что по мере увеличения возраста особи численность популяций региональных стволовых клеток сокращается.

Если же в органе не хватает своих региональных стволовых клеток, то в него могут мигрировать клетки из других и дать начало нужной ткани. Недавно показано, что стволовые клетки, изолированные из одной взрослой ткани, могут дать начало зрелым клеткам других клеточных линий, независимо от назначения классического зародышевого слоя. Так, эндотелий крупных магистральных артерий не имеет собственных запасов стволовых клеток. Его обновление происходит за счет стволовых клеток костного мозга, поступающих в кровоток. Однако сравнительная неэффективность подобных преобразований *in vivo* (в организме), даже при наличии повреждения ткани, ставит вопрос о том, имеет ли этот механизм физиологическое значение.

Интересно, что среди взрослых стволовых клеток способность к перемене линий наиболее велика у стволовых клеток, которые могут быть культивируемы в среде в течение длительного времени.

Если удастся решить вопрос трансформации клеточных линий, то вполне возможным станет использование этих технологий в репаративной медицине для лечения широкого круга болезней. Однако, несмотря на достижения биологии последних лет, в проблеме регенерации еще остается очень много нерешенных вопросов.

8.5. старость и старение. смерть как биологическое явление

Старость представляет собой стадию индивидуального развития, по достижении которой в организме наблюдаются закономерные изменения в физическом состоянии, внешнем виде, эмоциональной сфере.

Старческие изменения становятся очевидными и нарастают в пострепродуктивном периоде онтогенеза. Однако начало угасания репродуктивной функции или даже ее полная утрата не

Источник KingMed.info

могут служить нижней границей старости. Действительно, менопауза у женщин, заключающаяся в прекращении выхода зрелых яйцеклеток из яичника (овуляция) и, соответственно, прекращении месячных кровотечений, определяет окончание репродуктивного периода жизни. Вместе с тем к моменту достижения менопаузы большинство функций и внешних признаков далеко не достигают состояния, характерного для старых людей. С другой стороны, многие изменения, которые мы связываем со старостью, начинаются до снижения репродуктивной функции. Это относится как к физическим признакам (поседение волос, развитие дальновзоркости), так и к функциям различных органов. К примеру, у мужчин снижение выделения мужских половых гормонов половыми железами и повышение выделения гонадотропных гормонов гипофизом, что характерно для старого организма, начинается примерно с 25 лет.

Различают хронологический и биологический (физиологический) возраст. Согласно современной классификации, основанной на оценке многих средних показателей состояния организма, людей, **хронологический (паспортный, календарный) возраст** которых достиг 60-74 лет, называют пожилыми, 75-89 лет - старыми, свыше 90 лет - долгожителями. Точное определение **биологического возраста** затруднено тем, что отдельные признаки старости проявляются в разном хронологическом возрасте и характеризуются различной скоростью нарастания. Кроме того, возрастные изменения даже одного признака подвержены значительным половым и индивидуальным колебаниям.

Рассмотрим такой признак, как упругость (эластичность) кожи. Тот биологический возраст (первые признаки потери упругости), который в этом случае женщина достигает примерно в 30 лет, мужчина достигает значительно позже. Именно поэтому прежде всего женщинам необходим грамотный и постоянный уход за кожей. С целью определения биологического возраста, что необходимо для суждения о скорости старения, используют **батареи тестов**, проводя совокупную оценку одновременно многих признаков, закономерно изменяющихся в процессе жизни.

Основу таких батарей составляют сложные функциональные показатели, состояние которых зависит от согласованной деятельности нескольких систем организма. Простые тесты обычно бывают менее информативными. Например, скорость распространения нервного импульса, которая зависит от состояния нервного волокна, снижается в возрастном интервале 20-90 лет на 10%, тогда как жизненная емкость легких, определяемая координированной работой дыхательной, нервной и мышечной систем, - на 50%.

Состояние старости достигается благодаря изменениям, составляющим содержание **процесса старения**. Этот процесс захватывает все уровни структурной организации организма - молекулярный, субклеточный, клеточный, тканевой, органный. Суммарный результат многочисленных частных проявлений старения на уровне целостного организма заключается в нарастающем с возрастом **снижении жизнеспособности особи, уменьшении эффективности приспособительных, гомеостатических механизмов**. Показано, например, что молодые крысы после погружения в ледяную воду на 3 мин восстанавливают температуру тела примерно за 1 ч. Животным среднего возраста на это требуется 1,5 ч, а старым - около 2 ч.

В целом старение приводит к прогрессивному **повышению вероятности смерти**. Таким образом, биологический смысл старения заключается в том, что оно делает **неизбежной** смерть организма¹. Последняя же представляет собой универсальный способ ограничить участие многоклеточного организма в размножении². Без смерти не было бы смены поколений - одного из главных условий эволюционного процесса.

Источник KingMed.info

Возрастные изменения в процессе старения не во всех случаях заключаются в снижении приспособляемости организма. У человека и высших позвоночных в процессе жизни приобретает опыт, вырабатывается умение избегать потенциально опасных ситуаций. Интересна в этом плане и система иммунитета. Хотя ее эффективность после достижения организмом состояния зрелости в целом снижается, благодаря «иммунологической памяти» по отношению к некоторым инфекциям старые особи могут оказаться более защищенными, чем молодые.

8.5.1. ИЗМЕНЕНИЕ ОРГАНОВ И СИСТЕМ ОРГАНОВ В ПРОЦЕССЕ СТАРЕНИЯ

Рассмотрим кратко изменения органов и функциональных систем животных, и в том числе человека, которые становятся заметными и нарастают по завершении активного репродуктивного периода онтогенеза.

Как правило, после 40-50 лет у человека возникают стойкие внешние проявления старения, в частности **кожных покровов**. Появляются морщины, образующиеся из-за потери подкожной жировой ткани, пигментные пятна, бородавки. Кожа становится сухой и шершавой в связи с уменьшением количества потовых желез, теряется ее эластичность, она становится дряблой.

Общее направление этих изменений для сердечно-сосудистой и дыхательной систем, а также основного обмена, отражающего состояние энергетических процессов в организме, иллюстрирует рис. 8.87.

¹ Наступлению биологической смерти нередко предшествует состояние клинической смерти, в котором клетки и ткани сохраняют достаточный уровень жизнеспособности, чтобы организм с помощью определенных воздействий мог быть возвращен к жизни (реанимация).

² Вопрос о потенциальном бессмертии и отсутствии старения у простейших, поставленный учеными в конце XIX - начале XX столетия на заре экспериментальной геронтологии, требует дальнейшей разработки. Наблюдения над амебами, размножающимися бесполом путем, показали, что выживание клеточной культуры, образованной исходно одной клеткой (клеточный клон), зависит от условий культивирования. Клон инфузорий, для которых типична смена бесполого размножения и полового процесса, постепенно утрачивал способность к последнему.

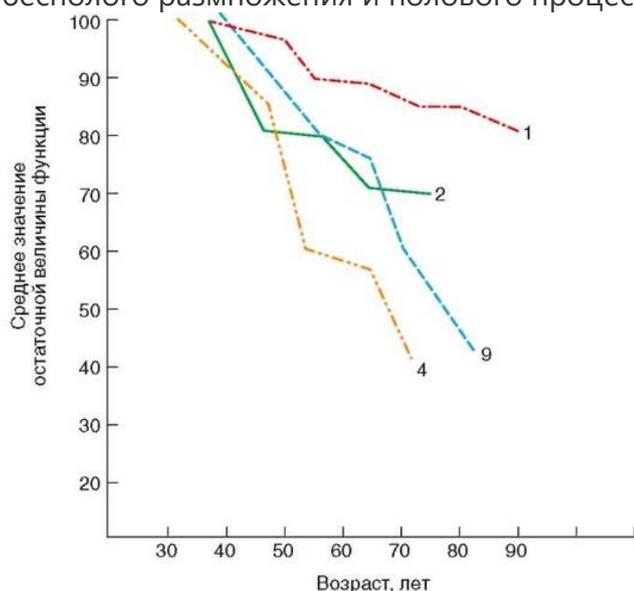


Рис. 8.87. Возрастные изменения некоторых жизненно важных функций человека: 1 - основной обмен; 2 - сердечный индекс; 3 - скорость кровотока; 4 - емкость легких

Источник KingMed.info

Признаки старения **сердечно-сосудистой** системы становятся заметными обычно в возрасте после 40 лет. Закономерные изменения наблюдаются в стенках сосудов: в них откладываются липиды, прежде всего холестерин, что наряду с другими структурными превращениями снижает эластичность и искажает ответы на различные стимулы, регулирующие кровообращение. Типично разрастание в стенках сосудов и сердца соединительной ткани, замещающей рабочую мышечную ткань. В результате снижается эффективность работы сердца, нарушается кровоснабжение тканей и органов. Так, кровоток по сосудам головного мозга 75-летнего человека по сравнению с 30-летним уменьшен на 20%.

В основе функциональных расстройств **дыхательной системы** лежит разрушение межальвеолярных перегородок, что сокращает дыхательную поверхность, разрастание в легких соединительной ткани, что снижает эффективность аэрогематического обмена кислорода. В итоге с возрастом падает жизненная емкость легких, которая к 75 годам достигает всего 56% от уровня в возрасте 30 лет.

Легко заметным изменением в **системе пищеварения** является потеря зубов. Падает эффективность функционирования пищеварительных желез, нарушения двигательной (моторной) функции кишечника нередко приводят к привычным запорам.

В процессе старения страдает функция **мочевыделительной системы**, снижается интенсивность фильтрации в почечных клубочках (на 31% в 75-летнем возрасте по сравнению с 30-летним), так же как и обратное всасывание веществ из фильтрата в почечных канальцах. Ухудшение функции мочевого выделения объясняется гибелью с возрастом значительного количества нефронов (до 44% от уровня 30-летнего возраста), представляющих собой структурно-функциональные единицы почек.

Специального внимания заслуживают изменения в процессе старения со стороны **мышечной системы и скелета**. Снижается сила сокращений поперечнополосатой мускулатуры, быстрее развивается утомление, наблюдается атрофия мышц. Характерная для стареющих людей перестройка костей заключается в разрежении их вещества (старческий остеопороз), что приводит к снижению прочности.

В процессе старения организма существенные изменения происходят в **репродуктивной системе**. При этом они затрагивают обе основные функции главных органов названной системы - половых желез: выработку гамет и образование половых гормонов. У женщин овогенез прекращается по достижении ими менопаузы. Образование функционально полноценных сперматозоидов в мужском организме возможно, по-видимому, даже в преклонном возрасте.

Изменение гормонального профиля людей в связи с угасанием репродуктивной функции носит сложный характер. Распространено мнение о прогрессивном снижении с возрастом концентрации у мужчин тестостерона, а у женщин эстрадиола и прогестерона - главных мужского и женских половых гормонов. Напомним, что оба типа гормонов образуются организмами обоих полов, только в разном количестве. Указанные сдвиги сопровождаются повышением секреции эстрадиола и прогестерона у мужчин и тестостерона у женщин. Вместе с тем содержание фолликулостимулирующего гормона у 80-90-летних женщин выше в 14 раз, а лютеинизирующего гормона - в 5 раз, чем у 20-30-летних. Резко нарушено у старых людей соотношение названных гормонов гипофиза, что является важной причиной нарушения репродуктивной функции в целом. Картина усложняется также тем, что в процессе старения изменяется ответ ткани на половые гормоны в связи с сокращением количества клеточных рецепторов к ним.

Изменения в процессе старения функций **эндокринной системы**

носят объективно сложный характер. В качестве примера рассмотрим изменения в стареющем организме функции щитовидной железы. Обнаружено, что к старости падает содержание в крови трийодтиронина и тироксина, в связи с изменением белков плазмы крови ухудшается перенос гормонов к тканям, в клетках уменьшается количество рецепторов, узнающих гормоны, а чувствительность рецепторов повышается. Вместе с тем в крови сохраняется достаточно высокая концентрация тиреотропного гормона гипофиза; чувствительность к нему клеток щитовидной железы возрастает. Из приведенной картины видно, что в отдельных звеньях цепи регуляции жизненно важных функций гормонами щитовидной железы возрастные изменения не одинаковы по масштабу, а иногда и разнонаправлены. В таком случае важен общий результат, степень выраженности которого подвержена индивидуальным колебаниям.

Наряду с эндокринной системой **нервной системе** принадлежит важная роль в регуляции, координации и интеграции разнообразных проявлений жизнедеятельности. Изменения нервной системы в процессе старения включают нарастающую гибель нейронов, масштабы которой колеблются от отдела к отделу и составляют от 15-20 до 70-75%. С другой стороны, сохранившиеся клетки увеличивают свои размеры, образуют дополнительные разветвления окончаний отростков в тканях-мишенях, что имеет приспособительное, заместительное значение. Общий итог, однако, заключается в том, что после 40-50 лет в тканях образуется недостаток нервных влияний, что приводит к нарушению регуляторных функций. Это справедливо, к примеру, в отношении иннервации сердца и сосудов, а также поперечнополосатой скелетной мускулатуры симпатической нервной системой.

Функциональные нарушения в процессе старения в центральной нервной системе зависят как от уменьшения числа нервных клеток, так и от снижения синтеза медиаторов, ослабления связей между отдельными мозговыми структурами, уменьшения скорости проведения нервных импульсов по волокнам и через синапсы. В стареющем организме с большим трудом вырабатываются условные рефлексы, приобретаются новые навыки. Изменения ряда функций носят более сложный характер. Так, интеллектуальные способности людей в возрасте 55-70 лет сохраняются такими же, какими они были в 20-30-летнем возрасте, а в возрасте 55-60 лет наблюдается второй пик творческой деятельности.

Одна из черт процесса старения заключается в снижении надежности **механизмов регуляции**, направленных на поддержание постоянства жизненно важных параметров внутренней среды организма - **гомеостаза**. Причину этого видят в функциональных изменениях стареющего гипоталамуса, с которым связывают действия своеобразных **биологических часов** старения всего организма. К гипоталамической области головного мозга человека относятся 32 пары ядер, участвующих в регуляции важнейших вегетативных функций. В целом процесс старения гипоталамических структур характеризуется неравномерностью и разнонаправленностью, что типично для других областей нервной системы.

В старости наблюдается снижение функций практически всех **органов чувств**. Уменьшается способность глаза к аккомодации, так как слабеют глазодвигательные мышцы и изменяется вещество хрусталика. Это ведет к старческой дальнозоркости. У старых людей хрусталик нередко теряет прозрачность - развивается катаракта. Падает острота зрения. Чувствительность органа слуха снижается, причем особенно к высокочастотным звуковым колебаниям. Старый человек хуже различает запах и вкус. К 75 годам люди сохраняют примерно 36% от количества вкусовых луковиц, которое имеется в возрасте 30 лет. У них нарушается чувство равновесия.

С возрастом заметно изменяются функции **иммунной системы**. За гуморальный иммунитет ответственны В-лимфоциты, вырабатывающие антитела к носителям чужеродной биологической информации - антигенам. Т-лимфоциты ответственны за клеточный иммунитет, например за

Источник KingMed.info

отторжение трансплантата, хотя могут участвовать в реакциях гуморального иммунитета. К старости наблюдается ослабление реакций как гуморального, так и клеточного иммунитета. Становление функции иммунной системы во многом связано с активностью тимуса, которая прекращается в связи с инволюцией железы по достижении половозрелого возраста (рис. 8.88). Нарушение естественного развития иммунной системы в эксперименте путем удаления вилочковой железы (например, у мышей) сокращает продолжительность жизни животных. Напротив, пересадка тимуса и костного мозга от молодой мыши к старой приводит к омоложению иммунной системы 19-месячной мыши до уровня 4-месячной. Некоторые такие животные жили заметно дольше своего обычного срока.

В стареющем организме клетки иммунной системы ошибочно вырабатывают антитела против собственных клеток и белков. Таким образом, старение сопровождается нарастанием аутоиммунных реакций.

Изменения в процессе старения органов **кроветворной системы** заключаются в снижении продукции эритроцитов. С возрастом способность костного мозга к восстановлению массы эритроцитов падает почти в 6 раз. Восполнение утраченных вследствие потери 30-40% общего объема крови эритроцитов происходит у 2-месячных крыс по 4,8%, а у 25-месячных - по 0,8% за 1 сут (рис. 8.89).

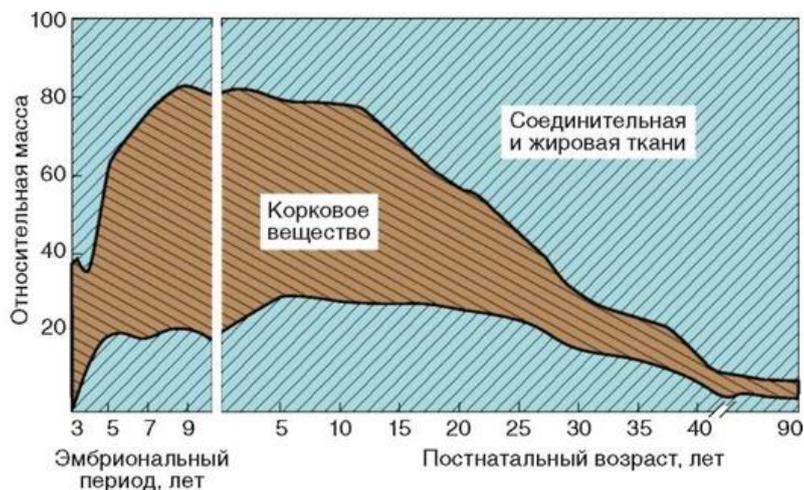


Рис. 8.88. Возрастные изменения вилочковой железы человека

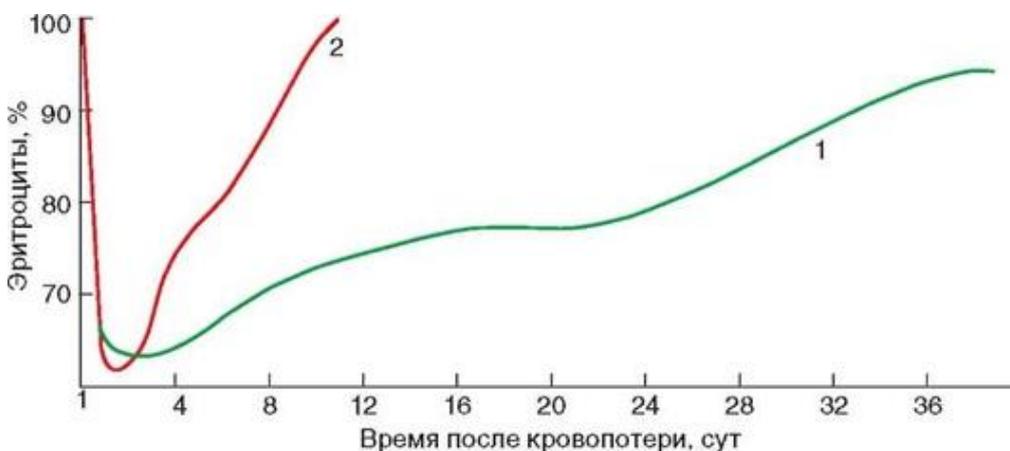


Рис. 8.89. Восстановление количества эритроцитов у 2-месячных (1) и 25-месячных (2) мышей после кровопотери

Источник KingMed.info

Из изложенного в данном разделе следует, что процесс старения распространяется практически на все структуры и функции организма. При этом некоторые показатели (упругость кожи, поседение волос) изменяются с возрастом довольно монотонно. Другие (артериальное давление, жизненная емкость легких) изменения носят пороговый характер, начиная регистрироваться примерно в возрасте 35-45 лет.

8.5.2. ПРОЯВЛЕНИЕ СТАРЕНИЯ НА МОЛЕКУЛЯРНОМ, СУБКЛЕТОЧНОМ И КЛЕТОЧНОМ УРОВНЯХ

Молекулярные и клеточные проявления старения многообразны. Они заключаются в изменении показателей потоков информации и энергии, состояния ультраструктур дифференцированных клеток, снижении интенсивности клеточной пролиферации.

Напомним, что функционирование ДНК, заключающей в себе биологическую (генетическую) информацию, связано с ее репродукцией, транскрипцией, репарацией. Учитывая возможную роль ошибок в молекулах ДНК в нарушении клеточных функций в процессе старения, изучали эффективность механизмов репарации повреждений молекулярной структуры ДНК (согласно расчетным данным, каждую секунду в геноме возникает минимум одно повреждение) в разном возрасте, а также корреляцию между интенсивностью этого процесса и продолжительностью жизни. В обоих случаях были получены противоречивые результаты. С одной стороны, уровень репарации повреждения УФ-облучением ДНК эмбриональных фибробластов трех линий мышей оказался пропорциональным средней продолжительности их жизни (900, 600 и 300 сут). С другой - репарация ДНК после УФ-облучения не различалась в культурах фибробластов кожи людей в диапазоне возрастов от 0 (новорожденные) до 88 лет. Общее заключение сводится к тому, что интенсивность молекулярной репарации ДНК меняется с возрастом в некоторых типах клеток, но главная причина клеточного старения не в этом.

В дифференцированных клетках млекопитающих старение сопровождается в целом снижением **транскрипционной активности**. Так, у мышей интенсивность синтеза РНК в ядрах печеночных и нервных клеток между 12-м и 30-м месяцами жизни падает на 50%. Изменение синтеза относится не только к рРНК, кодирующим структуру белков, но и к и(м)РНК. В сравнении с активным репродуктивным периодом жизни в стареющем организме действительно наблюдается исчезновение в клетках определенных типов и(м)РНК, правда, в это же время регистрируется появление некоторых типов и(м)РНК, не образующихся ранее. Таким образом, речь идет о частичной смене биологической информации, используемой клеткой в разном возрасте (феномен дифференциальной активности генов).

Скорость снижения транскрипционной активности ДНК в постми-тотических высокодифференцированных клетках, к примеру нервных, зависит от условий их существования в течение жизни, в частности от напряженности их функционирования. Так, одна и та же функциональная нагрузка, распределенная между меньшим числом клеток, приводит к более раннему падению уровня транскрипции в их ядрах. Было также показано, что параллельно изменению скорости снижения транскрипции сокращается максимально достигаемая животными продолжительность жизни. ДНК эукариотических клеток находится в комплексе с белками - гистоновыми и негистоновыми, образуя вместе с ними хроматин ядер. Предполагают, что регуляция транскрипции информации с ДНК происходит путем изменения ДНК-белковых связей в хроматине. С возрастом такие связи становятся менее подвижными, отмечается снижение содержания в хроматине негистоновых белков.

Изменение **трансляции** в процессе старения изучают по содержанию рРНК (показатель общей белокобразующей способности клетки), и(м)РНК (набор образуемых белков), активности

Источник KingMed.info

аминоацил-тРНК-синтетаз (ферменты активации аминокислот). Оказалось, что в возрасте от 12 до 70 лет у людей утрачивается до половины генов рРНК, относящихся, как известно, к умеренно повторяющимся нуклеотидным последовательностям, которые продублированы в геноме человека более 300 раз. Сохраняющееся число генов, по-видимому, способно обеспечить образование требуемого количества рРНК. Интенсивность белкового синтеза в целом снижается в зрелом возрасте.

О возрастных изменениях набора образуемых белков судят по содержанию в клетках различных ферментов. Полученные данные трудно оценить однозначно, так как обнаруженные отклонения даже в группах ферментов, сходных по функции, нередко разнонаправленны. Вместе с тем активность ферментов, ответственных за окисление, изменяется в стареющем организме однонаправленно: она снижается.

Немаловажное значение при старении имеют изменения **энергетики организма**, в частности, давно отмечена обратная связь между продолжительностью жизни животных различных видов и удельной скоростью обмена веществ. Существует особое понятие **энергетического жизненного потенциала**, отражающего общее количество расходуемой за жизнь энергии. Его величина для млекопитающих (кроме приматов) составляет примерно 924 кДж/г, большинства приматов - 1924 кДж/г, лемура, обезьяны-капуцина и человека - 3280 кДж/г массы тела. Изменения потока энергии в процессе старения состоят в снижении количества митохондрий в клетках, а также падении эффективности их функционирования. Так, у взрослых крыс количество кислорода, потребляемое на 1 мг белка митохондрий, более чем в 1,5 раза выше, чем у старых животных. Важное свойство стареющего организма - смещение в процессах энергообеспечения функций соотношения между тканевым дыханием и гликолизом (бескислородный путь образования АТФ) в пользу последнего.

Изменения в процессе старения ультраструктуры клеток затрагивают практически все органеллы, как общего, так и специального значения. Одновременно может происходить накопление необычных веществ, иногда структурно оформленных (липофусцин). Наиболее заметна возрастная перестройка постмитотических высокоспециализированных клеток - нейронов, кардиомиоцитов. Для стареющих нервных клеток, например, типично обеднение цитоплазмы мембранами, сокращение объема шероховатой эндоплазматической сети, увеличение содержания в клеточных телах микрофибрилл, что, возможно, связано с нарушением транспорта веществ по отросткам.

В отростках мотонейронов старых крыс скорость транспорта составляет примерно 200 мм/сут, тогда как у зрелых животных - 320 мм/сут. Параллельно наблюдается снижение интенсивности синтеза белка и РНК. Отмечается замедление проведения нервного импульса, а в некоторых типах нервных клеток - уменьшение количества образуемого медиатора. Наиболее типичная черта старения нервных клеток млекопитающих, в том числе человека, - нарастающее накопление с возрастом в цитоплазме пигмента **липофусцина**. У 60-летних людей благодаря увеличению содержания пигмента доля цитоплазмы снижается в 1,3, а у 80-летних - в 2 раза в сравнении с 40-летними. Липофусцин часто называют пигментом изнашивания, т.е. балластом. Противоположная точка зрения приписывает липофусцину роль внутриклеточного депо кислорода.

Возрастное накопление липофусцина распространяется кроме нервной системы на сердечную и скелетную мускулатуру. Сдерживание роста содержания пигмента в клетках плодовых мух путем ограничения летательной активности сочеталось с двукратным увеличением средней продолжительности жизни.

Источник KingMed.info

Еще один пример изменения в ходе старения специальных органелл касается миофибрилл в клетках сердечной мышцы, в отношении которых начинают преобладать деструктивные процессы.

На определенном этапе прогрессивная эволюция жизни на земле оказалась связанной с переходом к более эффективному аэробному типу энергообеспечения процессов жизнедеятельности. Не следует, однако, забывать, что использование клетками кислорода приводит к образованию свободных радикалов (O_2^- , OH^- , H_2O_2), которые в силу чрезвычайной реакционной способности могут вызывать быстрые разрушения биологических структур (мембран, макромолекул). Неблагоприятным эффектам свободных радикалов в клетках противостоят закрепленные процессом эволюции природные антиоксидантные механизмы. К ним принадлежат ферменты, разрушающие пероксиды. В процессе старения действенность механизмов, нейтрализующих свободные радикалы и пероксиды, снижается. Свободные радикалы способны нарушить любое звено молекулярной организации клетки. Сказанное делает их универсальным фактором старения на молекулярном и субклеточном уровне вне зависимости от вида клетки.

С начала 60-х гг. появились новые взгляды на значение для старения и продолжительности жизни закономерностей **клеточной пролиферации**. На основании подсчета числа делений фибробластов, высеваемых в культуру ткани от эмбриона человека и от взрослых людей, было сделано заключение о **пределе клеточных делений (лимит Хейфлика)**, которому соответствует видовая длительность жизни. Показано, что фибробласты мыши способны удваивать свою численность 14-28 раз, цыпленка - 15-35, человека - 40-60, черепахи - 72-114 раз. Проверка результатов, о которых идет речь, выявила, что представление об ограниченности числа клеточных делений в индивидуальном развитии неточно.

Вместе с тем сохраняют свое значение классические представления, уходящие корнями в XIX столетие, утверждающие, что старение и естественное его следствие - смерть - это своеобразная плата за явление клеточной дифференцировки. Выход клеток в дифференцировку для многих типов клеток означает старение и гибель в связи с утратой возможности возвращения в митотический цикл (нервные клетки, сердечная и скелетная мышцы, лейкоциты и эритроциты крови, эпителий ворсин кишечника).

8.6. зависимость проявления старения от генотипа, условий и образа жизни

Согласно данным многочисленных наблюдений, на скорость нарастания и выраженность изменений в процессе старения оказывают влияние генетическая конституция (генотип) организма, условия, в которых он развивается и живет, а для человека - его образ жизни.

8.6.1. ГЕНЕТИКА СТАРЕНИЯ

Старение представляет собой всеобъемлющий процесс, охватывающий все уровни структурной организации особи - от макромолекулярного до организменного. Этим, а также тем, что главным биологическим результатом старения является прогрессивное повышение вероятности смерти, объясняется использование в исследованиях по генетике старения такого обобщающего показателя, как **продолжительность жизни** в пострепродуктивном периоде, наследуемость которого, собственно, и изучается.

Ряд наблюдений легли в основу достаточно распространенной точки зрения о наследуемости продолжительности жизни и, следовательно, наличии **генетического контроля** или даже **особой генетической программы** старения. Во-первых, максимальная продолжительность жизни ведет себя как видовой признак. При этом она положительно связана

с такими важными эволюционно закрепленными показателями биологии вида, как длительность эмбрионального периода и возраст достижения половой зрелости (табл. 8.4).

Таблица 8.4. Максимальная продолжительность жизни, длительность эмбрионального периода и возраст достижения половой зрелости у различных видов млекопитающих животных

Вид	Максимальная продолжительность жизни, мес	Длительность беременности, мес	Возраст достижения половой зрелости, мес
Человек	1380	9	144
Индийский слон	840	21	156
Лошадь	744	11	12
Шимпанзе	534	8	120
Бурый медведь	442	7	72
Домашняя собака	408	2	7
Крупный рогатый скот	360	9	6
Макака-резус	348	5,5	36
Кошка	336	2	15
Свинья	324	4	4
Саймири	252	5	36
Овца	240	5	7
Коза	216	5	7
Серая белка	180	1,5	12
Европейский кролик	156	1,5	12
Морская свинка	90	1,2	2
Домашний кролик	90	1,2	2
Золотистый хомячок	56	0,7	2
Мышь	48	0,5	2
	42	0,7	2

Во-вторых, величины продолжительности жизни у однояйцевых близнецов более близки (конкордантны), чем у разнояйцевых. Попарные различия по этому показателю составляют в среднем 14,5 года для первых и 18,7 года для вторых. Сходная картина наблюдается при сопоставлении колебаний длительности жизни среди лабораторных животных одной линии и различных линий. Так, у мышей получены линии с продолжительностью жизни от 120 до 700 сут.

В-третьих, описаны наследственные болезни с ранним проявлением признаков старости и одновременно резким сокращением продолжительности жизни. Например, при синдроме Хатчинсона-Гилфорда (инфантильная прогерия, или постарение в детском возрасте) уже на первом году жизни отмечаются задержка роста, раннее облысение, морщины, атеросклероз. Половой зрелости такие субъекты, как правило, не достигают, и смерть наступает в возрасте до 30 лет. Для названного синдрома установлено аутосомно-доминантное наследование.

В-четвертых, в лабораторных условиях путем близкородственных скрещиваний получены инбредные линии плодовой мухи и мыши, существенно различающиеся по средней и максимальной продолжительности жизни. Гибриды 1-го поколения от скрещивания родителей из разных короткоживущих линий (рис. 8.90) живут дольше родителей, что расценивают как явление гетерозиса.

Источник KingMed.info

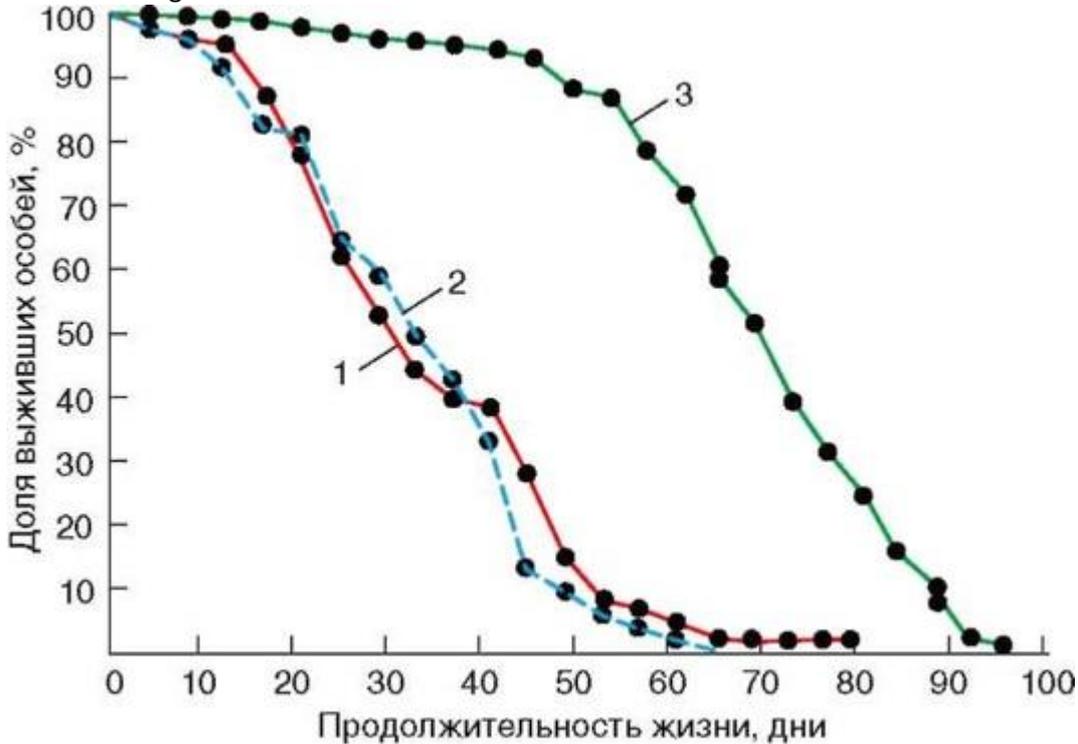


Рис. 8.90. Явление гетерозиса, заключающееся в увеличении длительности жизни гибридов первого поколения от скрещивания плодовых мух из двух короткоживущих линий: 1 - инбредная линия K; 2 - инбредная линия B; 3 - гибриды F_1 ($B \times K$)

В-пятых, замечено, что среди плодовых мух особи, гомозиготные по аллелю зачаточных крыльев, имеют меньшую продолжительность жизни, чем мухи дикого типа (плейотропия). Потомки от скрещивания мутантов и мух дикого типа по рассматриваемому показателю проявляют единообразие и близки к последним. Среди гибридов 2-го поколения от скрещивания таких потомков между собой происходит расщепление по продолжительности жизни в отношении 3:1 (дикий тип: мутантный тип). Аналогично описанной мутации у мыши также обнаружено много примеров влияния отдельных генов на продолжительность жизни, причем в сторону ее снижения. Сходным примером у человека является мутация, приводящая к развитию синдрома Марфана и фенотипически проявляющаяся в дефектном развитии соединительной ткани: наряду с «паучьими» пальцами, подвывихом хрусталика, пороком сердца, повышенным выбросом в кровь адреналина такие субъекты отличаются сокращенной продолжительностью жизни. В-шестых, для людей выявлена положительная связь между длительностью жизни родителей и потомков.

Приведенные материалы, свидетельствуя в пользу генетического контроля длительности жизни и старения, не дают ответа на важные вопросы о том, насколько велика сила этого контроля и через какие конкретные генетические механизмы он осуществляется. Представление о величине наследуемости продолжительности жизни получают, определяя **коэффициент наследуемости**. Он отражает меру сходства между родственниками по изучаемому признаку. По данным разных авторов, коэффициент корреляции между продолжительностью жизни детей и родителей составляет от 0,02 до 0,13, т.е. низок. Сходные цифры получены для мышей: 0,01-0,40. Родители и дети принадлежат к разным поколениям, а условия проживания меняются. С целью избежать занижения значений коэффициента корреляции за счет различий в условиях жизни сопоставляли продолжительность жизни братьев и сестер. В данном случае коэффициент корреляции оказался выше: 0,15-0,30. Однако и здесь значения существенно ниже тех, которые

Источник KingMed.info

характеризуют признаки с высокой наследуемостью. К примеру, коэффициент наследуемости роста составляет около 0,70.

Данные по коэффициенту наследования долголетия полезно дополнить примерами, раскрывающими их биологический смысл. Так, если пронаблюдать 25-летних людей, предки которых жили либо достаточно мало, либо, наоборот, достаточно долго, то различие между этими группами по средней продолжительности жизни составит всего 2-4 года.

Тем не менее существуют данные о некоторой связи между средней длительностью жизни предков и потомков, прослеживаемой до 70-летнего возраста (табл. 8.5).

Таблица 8.5. Связь между продолжительностью жизни предков и потомков

Возраст опрашиваемых потомков, лет	Средняя продолжительность жизни предков, лет
40 50 60 70 90 95 100 105	66,0 66,8 70,5 74,8 74,3 74,3 74,8 73,8

Изучение связи между продолжительностью жизни родителей и детей, достигших 20-летнего возраста, показало, что превышение родителями средней продолжительности жизни на 10 лет добавляет к жизни детей 1 год.

Отсутствие специальной генетической программы старения.

Между тем первостепенный интерес для медицины представляет вопрос о факторах, влияющих на скорость этого процесса, среди которых могут быть и генетические. Общий вывод заключается в том, что при отсутствии специальных генов или целой программы, прямо определяющих развитие старческих признаков, процесс старения находится тем не менее под генетическим контролем путем изменения его скорости.

Называют разные пути такого контроля. Во-первых, это **плейо-тропное действие**, свойственное многим генам. Допустим, что один из плейотропно действующих генов оказывает выраженное положительное влияние на ранних стадиях индивидуального развития, но ряд связанных с ним фенотипических проявлений носит отрицательный характер. Для сохранения полезных свойств гена и ослабления вредных в генотипе появляются и закрепляются отбором гены-модификаторы, ослабляющие неблагоприятное действие в раннем онтогенезе. В пострепродуктивном периоде онтогенеза действие модификаторов, уже не поддерживаемое отбором, снижается. Это дает возможность неблагоприятным свойствам гена проявить себя, ускоряя старение.

Во-вторых, со временем в **генотипах соматических клеток**, особенно в области регуляторных нуклеотидных последовательностей, **накапливаются ошибки** (мутации). Следствием этого становится нарастающее с возрастом нарушение работы внутриклеточных механизмов, процессов репликации, репарации, транскрипции ДНК.

В-третьих, генетические влияния на скорость старения могут быть связаны с генами **предрасположенности к хроническим заболеваниям**, наследуемым по полигенному типу, таким как ишемическая болезнь сердца, атеросклероз сосудов головного мозга, гипертония. Правда, некоторые формы семейного повышения уровня холестерина в крови, фактора риска ишемической болезни сердца, наследуются моногенно. Частота этих форм составляет 6-8 на 1000 человек. Исследования на долгожителях показывают, что их отличает повышенная устойчивость к хроническим заболеваниям, а время наступления таких болезней отсрочено. Так, среди лиц, превысивших 80-летний возрастной рубеж и страдавших атеросклерозом сосудов головного мозга, свыше 86% имели лишь начальную стадию заболевания. В пользу наличия генотипических влияний говорит то, что у родственников долгожителей как бы замедлен темп старения нервной системы: некоторые показатели функционирования этой системы соответствуют на 15-20 лет меньшему календарному возрасту.

Источник KingMed.info

Об этом свидетельствует повышенная вероятность заболеть ишемической болезнью у родственников (особенно 1-й степени родства) лиц, страдающих этим заболеванием. Приведенные выше примеры зависимости скорости старения от особенностей генотипа можно истолковать как доказательство участия генотипа в контроле старения, т.е. процессов, ведущих к снижению жизнеспособности в пострепродуктивном периоде. Вместе с тем правомерна и иная точка зрения. От индивидуальных особенностей генотипа зависит надежность молекулярных, клеточных, системных механизмов жизнеспособности организма. Таким образом, речь идет о **генетической основе противостояния процессу старения**, снижения его скорости или степени риска заболеть достаточно рано хроническим заболеванием, большей устойчивости в стрессовых ситуациях.

В пользу такого взгляда на генетику старения говорят результаты исследований последних десятилетий: наблюдения за фенотипическим эффектом в виде увеличения средней и/или максимальной продолжительности жизни при некоторых мутациях, а также изменение длительности жизни животных (круглый червь *C. elegans*, плодовая муха, мышь), «нокаутированных» по определенным генам (генноинженерная технология «*knock out*», заключающаяся в удалении или функциональной инактивации конкретного гена). Дело в том, что в основном это гены, контролирующие функционирование внутриклеточных антиоксидантных систем (плодовые мухи с увеличенным числом генов одновременно супероксид-дисмутазы и каталазы, но не гена одного из названных ферментов, жили на 20-37% дольше обычных мух), образование клеточных рецепторов к инсулину или инсулинподобному фактору роста 1, оказывающих влияние на гормональный фон (карликовые мыши Эймса, несущие точечные мутации в гене *Prophet pit 1*, живут на 50-64% дольше, характеризуясь пониженным уровнем пролактина, тиреоидстимулирующего гормона, гормона роста, инсулинподобного фактора роста 1 и инсулина в плазме крови; эти животные отличаются также сниженной температурой тела). Можно заключить, что генетический контроль существенных параметров старения (например, скорости) реализуется путем оптимизации генетического сопровождения процессов антибиостарения.

У людей долголетию способствует наличие в генотипах гена апо-липопротеина в виде аллеля *E2*, тогда как аллель названного гена *E4* повышает предрасположенность к гиперхолестеринемии и болезни Альцгеймера (но не к диабету или раку).

8.6.2. ВЛИЯНИЕ НА ПРОЦЕСС СТАРЕНИЯ УСЛОВИЙ ЖИЗНИ

Условия жизни относятся к категории понятий, отличающихся широтой и некоторой размытостью границ. Если для животных оно включает природно-географические, прежде всего климатические, факторы, то в отношении человека необходимо учитывать также и социально-экономические факторы.

Исследование влияний условий жизни на процесс старения проводят несколькими путями. Во-первых, путем изучения скорости соответствующих изменений организмов, проживающих в разных условиях. Во-вторых, путем сопоставления значений смертности или продолжительности жизни в различающихся по условиям жизни популяциях в пределах одного или разных исторических периодов времени. Продолжительность жизни здесь выступает как обобщенный показатель жизнеспособности. В-третьих, свой вклад вносит изучение распределения по планете долгожителей.

Оценка влияния условий жизни на скорость старения требует предварительного отбора демонстративных показателей, значения которых закономерно изменяются соответственно

Источник KingMed.info

возрасту. В исследованиях **зависимости скорости старения от условий жизни, проводимых на лабораторных животных**, используют следующие признаки:

- состояние белков соединительной ткани коллагена и эластина;
- показатели сердечной деятельности и кровообращения;
- содержание пигмента липофусцина в клетках нервной системы и сердца;
- показатели произвольной двигательной активности;
- способность к обучению.

Изучали влияние на скорость старения многих условий жизни: пониженной температуры окружающей среды, измененного режима двигательной активности, воздействий ионизирующим облучением, повышенного парциального давления кислорода. В опытах на плодовых мухах, например, установлено, что увеличение в атмосфере в три раза концентрации O_2 приводит к ускоренному старению, что выражается в более быстром отложении в тканях липофусцина. Параллельно отмечалось сокращение вдвое длительности жизни. В другом опыте кроликов с раннего возраста систематически и длительно подвергали повышенным двигательным нагрузкам. В описанных условиях у кроликов замедлялся ритм сердечных сокращений, снижалось артериальное давление. Направление изменений со стороны сердечно-сосудистой системы дает возможность судить о снижении скорости старения животных. Одновременно было установлено, что подопытные кролики жили в 1,5 раза дольше животных с обычной для вида двигательной активностью.

В процесс старения вовлекаются **все структуры и функции** организма. Важное свойство этого процесса - его **гетерогенность**. В соответствии с этим свойством изменения, характерные для старения, появляются в различных клетках, тканях и органах в разном календарном возрасте. С другой стороны, в любом органе стареющего организма типичные для этого процесса изменения **сочетаются с изменениями приспособительными**, направленными на восполнение структурных и функциональных потерь. В таких условиях невозможно точно определить скорость старения организма как целостной системы путем оценки скорости старения по изменениям отдельных показателей, будь то накопление липофусцина или повышение артериального давления. Необходим обобщенный критерий, каковым является **продолжительность жизни** или связанная с ней жизнеспособность.

Использование такого показателя, как продолжительность жизни, носящего статистический характер, позволяет проводить исследования непосредственно на людях, группируя условия жизни согласно их природе: социально-экономические, климатогеографические, местные, связанные, например, с минеральным составом почв и грунтовых вод или же с уровнем радиации.

Влияние **социально-экономических условий** на длительность жизни может быть оценено путем сравнения названного показателя для одной и той же популяции (например, население страны), но в разные исторические периоды или же путем сопоставления продолжительности жизни в двух популяциях, различающихся по жизненному уровню и сосуществующих в одно и то же историческое время. Социально-экономические условия жизни населения стран Европы, Северной Америки, некоторых стран Азии и Африки претерпели существенные изменения в текущем столетии. Главным итогом этих изменений стало повышение жизненного уровня, улучшение питания, жилищных условий, качества охраны здоровья и медицинской помощи.

Источник KingMed.info

Соответственно, значения средней продолжительности жизни в таких странах возросли к 90-м гг. XX в. более чем в два раза в сравнении со значениями показателя для начала века. К примеру, в начале века средняя продолжительность жизни жителей России составляла 32 года, тогда как в 1987 г. она достигла 64 лет для мужчин и 73 лет для женщин.

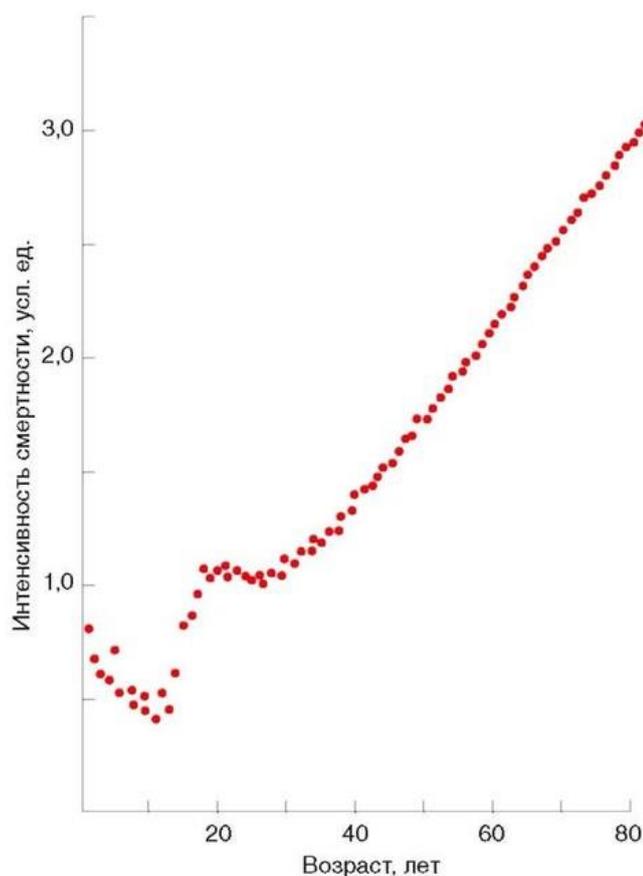


Рис. 8.91. Интенсивность смертности мужчин в зависимости от их возраста (Швеция, 1971-1975 гг.)

В экономически развитых странах средняя продолжительность жизни в целом превышает 70 лет, однако во многих развивающихся странах и в настоящий исторический период она не достигает 40 лет.

Приведенные сведения указывают на очевидную зависимость длительности жизни от социально-экономических условий. Означает ли это, что изменения социально-экономических условий в сторону их улучшения замедляют скорость старения? Зависимость смертности людей от возраста показана на рис. 8.91. По ходу приведенной кривой наблюдаются три отрезка, различающихся по интенсивности и направлению изменения смертности. Во-первых, это пик смертности, вершина которого приходится на период новорожденности: примерно 2000 младенческих смертей на 100 000 рождаемых.

Источник KingMed.info

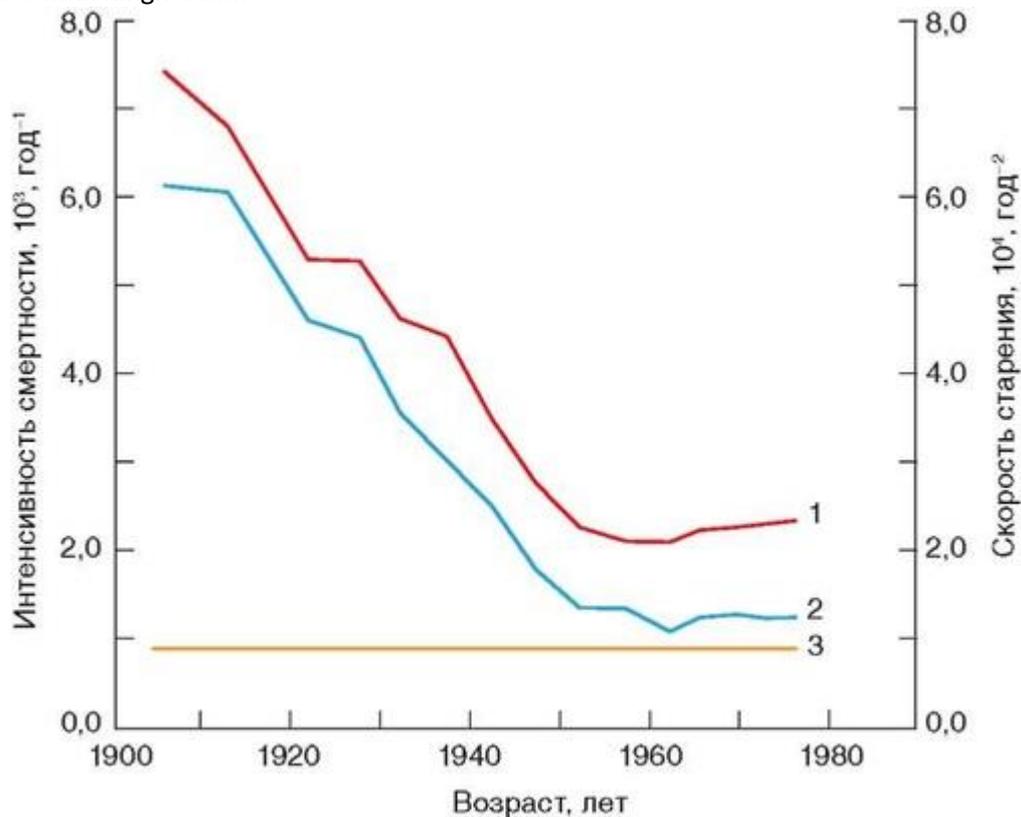


Рис. 8.92. Постоянство скорости старения людей определенной популяции в XX в. (Швеция): 1 - интенсивность смертности мужчин в возрасте 40 лет; 2 - то же, в возрасте 30 лет; 3 - скорость старения мужчин в возрастном интервале 30-40 лет

Далее интенсивность смертности снижается, и в возрасте 9-12 лет она минимальна: 20-30 умерших на 100 000 детей. Начиная с возраста половой зрелости смертность монотонно возрастает, причем рост происходит по экспоненте таким образом, что после 30-35 лет удвоение значений происходит каждые 8 лет. В возрасте более 80 лет интенсивность смертности высока и по мере прибавления лет практически не меняется.

Для суждения о зависимости скорости старения людей от социально-экономических условий жизни достаточно сравнить ход кривых возрастной интенсивности смертности в популяции в начале и во второй половине XX в. Видно, что принципиальных изменений конфигурация кривой не претерпела. На всем своем протяжении она лишь сместилась в область более низких значений. Следовательно, улучшение социально-экономических условий уменьшает вероятность смерти в молодом возрасте, но не изменяет скорости старения. На неизменяемость скорости старения в конкретной популяции людей в течение XX в., несмотря на существенное повышение жизненного уровня, указывают, например, данные об абсолютном возрастном приросте интенсивности смертности мужчин Швеции с 1900 по 1980 г. (рис. 8.92). Таким образом, лучшие социально-экономические условия делают людей, притом любого возраста, лишь менее доступными действию факторов, которые в иных условиях привели бы к смертельному исходу.

Сделанное заключение хорошо согласуется с теми изменениями, которые произошли на протяжении текущего столетия в перечне главных причин смертности людей (табл. 8.6).

Относительно скромные значения средней продолжительности жизни (35-40 лет) в сравнении с максимально регистрируемой (115-120 лет) в первой трети XX в. в подавляющем большинстве стран Европы, отличавшихся в тот период относительно высоким жизненным уровнем, затрудняли прицельное изучение влияния физико-химических, климатических и иных природных

Источник KingMed.info

факторов на скорость старения в популяциях, занимающих различные территории. В настоящее время с увеличением средней длительности жизни до 67,3-74,1 года у мужчин и до 74,2-79,9 года у женщин ситуация изменилась.

Рассмотрим следующий пример. Мужчин Финляндии отличает низкий показатель средней продолжительности жизни (69,2 года в 1980 г.) и один из самых высоких показателей смертности от сердечно-сосудистых заболеваний в Европе. При этом в самой Финляндии особенно высоких значений этот показатель достигает в Северной Карелии. При изучении минерального состава почв и грунтовых вод этого района оказалось, что в них исключительно низка концентрация микроэлемента селена (Se). Соответственно, низкой оказалась и концентрация Se в крови финнов: 0,056-0,081 мкг/мл, в сравнении с 0,206 мкг/мл, например, у жителей США. У мужчин с концентрацией Se в сыворотке крови менее 0,045 мкг/мл риск смерти от сердечно-сосудистых заболеваний выше в 2,7 раза, а от ишемической болезни сердца - в 3,6 раза. Зависимость скорости старения от поступления в организм достаточных количеств Se объясняется тем, что последний входит в состав фермента глутатионпероксидазы. Названный фермент катализирует реакции распада H_2O_2 и органических ги-дропероксидов, разрушающих мембраны и другие клеточные структуры.

Таблица 8.6. Изменение главных причин смертности людей в течение XX в. (на примере населения г. Нью-Йорка с 1900 по 1970 г.)

Причина смерти	Доля от всех смертных случаев, %
1900 г.	
Пневмония, грипп, бронхит Туберкулез Диарея, энтериты Болезни сердца	14,4 11,3 8,1 8,0
1930 г.	
Болезни сердца Пневмония, грипп, бронхит	18,9 9,4 8,6 8,0
Рак	
Нефриты	
1970 г.	
Болезни сердца	38,3 17,2 10,6 3,6
Рак	
Инсульт	
Грипп, пневмония, бронхит	

Следует отдавать отчет в том, что Se представляет собой лишь один из природных факторов, который, включаясь в процессы жизнедеятельности, изменяет риск смерти, влияя на скорость возрастной перестройки сердечно-сосудистой и других систем организма. Число таких факторов велико, причем большинство из них, видимо, еще не определены. С другой стороны, в Финляндии недостаток Se в диете мало сказывается на жизнеспособности женщин, которые по средней продолжительности жизни (77,6 года в 1980 г.) относятся в Европе к достаточно благополучным популяциям. Причина, по-видимому, кроется в генотипических различиях:

у мужчин во всех клетках активна единственная хромосома х материнского происхождения со всеми ее дефектами, а у женщин в разных клетках активна хромосома х то материнского, то отцовского происхождения.

Испытания атомного и водородного оружия, развитие ядерной энергетики и технологий повышают уровень радиационного фона. Расчеты на человечество в целом показывают, что хроническое облучение населения планеты с мощностью дозы 1 Гр на поколение сокращает продолжительность жизни на 50 000 лет на каждый 1 млн живых новорожденных в первом облученном поколении. В настоящее время за счет естественных и созданных человеком

Источник KingMed.info

источников радиации за поколение человечество получает менее 0,05 Гр. Воздействие на живые ткани ионизирующего облучения приводит к образованию в них свободных радикалов, которые повышают риск развития сердечно-сосудистых заболеваний и рака (рис. 8.93). Так как нарастание риска этих заболеваний - показатель скорости старения, изменения условий жизни в сторону повышения радиационного воздействия ускоряют названный процесс.

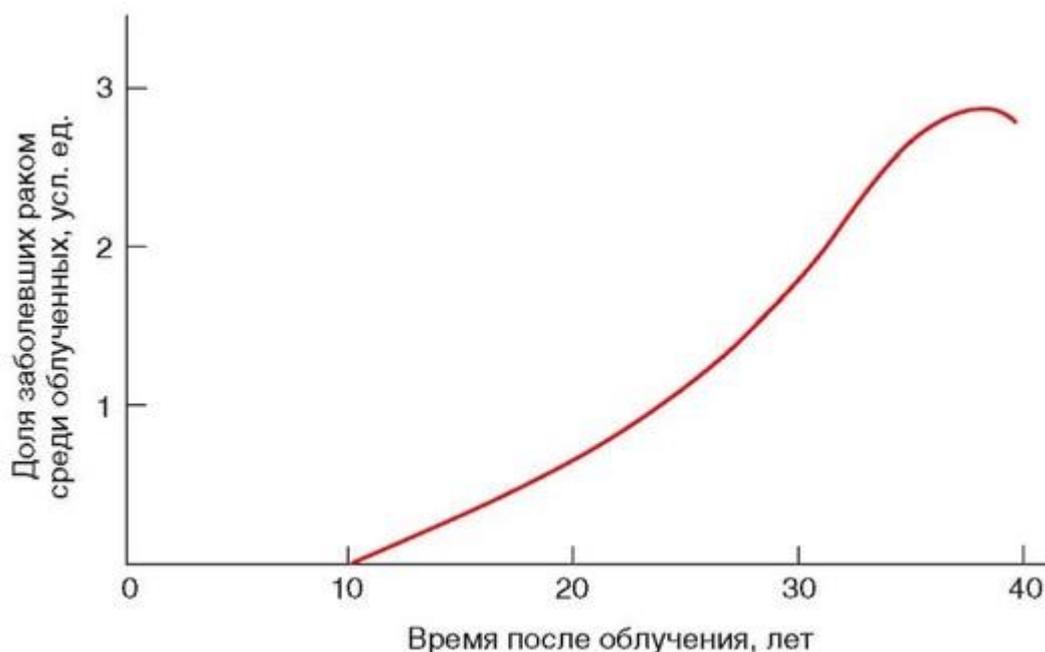


Рис. 8.93. Рост вероятности развития злокачественных опухолей (кроме лейкозов) после однократного облучения всего тела дозой 0,01 Гр

К представлению о том, что риск развития раковых опухолей может рассматриваться как показатель скорости старения, следует относиться критически. Так, у мышей мутация гена фермента геликазы XPDTTD приводит к ускоренному старению (мутантные мыши не живут дольше 1,5 года), но без возрастания вероятности развития опухоли. Мыши с двойной мутацией названного гена XPDXP/CS, демонстрируя признаки ускоренного старения (остеопороз, ранняя потеря фертильности и остановка роста, нейродегенеративные изменения, глухота и др.), характеризуются также повышенным риском развития опухолей.

Определенные, хотя и ограниченные представления о влиянии условий жизни на процесс старения дает изучение **субпопуляций долгожителей**. Напомним, что к долгожителям причисляются лица в возрасте 90 лет и более. Их количество в популяции выражается индексом долгожительства, т.е. долей долгожителей среди населения старше 60 лет: $N_{90}/N_{60} \cdot 1000$, где N_{90} - число долгожителей; N_{60} - число членов популяции в возрасте 60 лет. На большей территории бывшего СССР (названия государства и административных единиц соответствуют 1970 г.; приводимые цифры основаны на данных переписи, проведенной в указанном году) индекс долгожительства не превышает 20%. В ряде территорий, однако, его значения выше в 2,5-3 раза. Для абхазов в Абхазии, азербайджанцев в Нахичевани, балкарцев в Кабардино-Балкарии, ингушей в Северной Осетии и Чечено-Ингушетии он превосходит 60%, для эвенков в Якутии - 50%.

Из приведенных сведений видно, что долгожительство характеризует определенные этнические группы, проживающие в основном в сельской местности, для которых можно предполагать достаточно высокий уровень брачной изоляции. Это наводит на мысль о генетической основе явления или же каких-то особенностях образа жизни. Два факта тем не менее свидетельствуют в

пользу того, что и условия жизни могут иметь некоторое значение. Во-первых, индекс долгожительства, например азербайджанцев, проживающих в Грузии и Азербайджане, оказывается ниже примерно на 10%, чем для проживающих в Нахичевани. Во-вторых, русское население в зонах долгожительства (Кавказ, Якутия) отличается более низкими значениями индекса в сравнении с населением, исторически традиционным для территории.

8.6.3. ВЛИЯНИЕ НА ПРОЦЕСС СТАРЕНИЯ ОБРАЗА ЖИЗНИ

Понятие **образа жизни** в строгом смысле применимо лишь к человеку, так как включает в себя осознанное отношение к собственным действиям и, следовательно, оставляет за индивидуумом право выбора поступать так или иначе. В повседневной жизни образ жизни нередко как бы навязывается людям внешними обстоятельствами (ограниченная двигательная активность работников интеллектуального труда и детей, увлеченных компьютерными играми, напряженный ритм жизни многомиллионного города, национальные традиции в питании). Значение образа жизни в изменении скорости старения усиливается тем, что те или иные привычки, среди которых есть вредные, устанавливаются в раннем зрелом возрасте и сопровождают человека обычно на протяжении всей жизни. Из многих важных сторон, характеризующих образ жизни, рассмотрим такие, как диета и семейная жизнь.

Осознание учеными зависимости скорости старения от **особенностей питания** изначально связано с результатами экспериментальной геронтологии. Приведем данные одного из многих опытов. При вскармливании крысам начиная с момента прекращения питания материнским молоком сбалансированной по витаминам и минеральным веществам, но низкокалорийной пищи удалось увеличить среднюю продолжительность жизни с 680 до 971 сут, а животные-рекордсмены доживали до 4-летнего возраста. По внешнему виду крысы 2-3-летнего возраста из этой группы походили на трехмесячных контрольных животных. Среди них на 50-90% снижалась частота гломерулонефрита, соединительнотканного перерождения сердечной мышцы (миокардиальный фиброз), а также некоторых опухолей.

Систематическое изучение влияния диеты на старение людей - дело исключительно трудное. С одной стороны, это длительные наблюдения, практически сопоставимые по времени с продолжительностью жизни, что требует от участников поистине сверхдисциплинированности. С другой стороны, ранний переход к низкокалорийной диете, как показали исследования на животных, резко повышает вероятность смерти в детском возрасте. Вместе с тем общий вывод заключается в том, что контролируемая диета представляет собой важнейший фактор здорового долголетия. Пища должна иметь пониженную калорийность с ограничением жирного, сладкого и соленого, но высоким содержанием клетчатки и пектиновых веществ. Основным источником калорий - белки и углеводы растительного происхождения, однако полного исключения продуктов животного происхождения не требуется. При этом пища должна быть разнообразной, содержать достаточное количество витаминов и микроэлементов.

Различные составляющие описанной диеты влияют на процесс старения через разные механизмы жизнедеятельности. О том, чем объясняется положительное действие микроэлемента Se, говорилось выше. Известно, что при недостатке в пище клетчатки и пектиновых веществ растет вероятность сердечно-сосудистых заболеваний и рака. Показана сильная положительная связь между потреблением жиров и таким заболеванием, как рак молочной железы, толстого кишечника (рис. 8.94). Важно помнить, что для любой категории продуктов находятся заболевания, частота которых связана с их преимущественным потреблением. Так, преобладание в диете продуктов в основном животного происхождения (мясо, яйца, масло, молоко, но также сахар, пиво) свойственно популяциям с высокой

Источник KingMed.info

смертностью от ишемической болезни сердца, рака толстого кишечника и молочной железы. Преобладание продуктов растительного происхождения (рис, бобовые, пшеница, овощи, фрукты, но рыба и вино) характеризует диету популяций с высокой смертностью от туберкулеза органов дыхания, язвенной болезни, цирроза печени, нефрита, рака полости рта, гортани, пищевода, желудка.

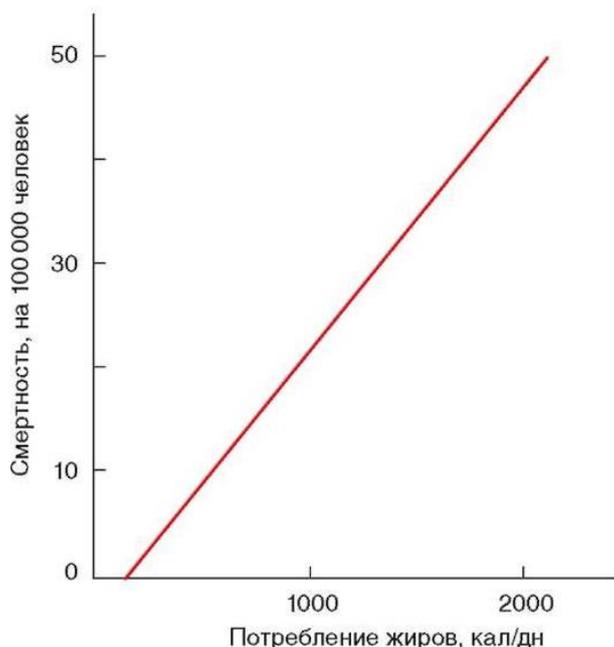


Рис. 8.94. Связь между потреблением жиров и смертностью от рака толстой кишки (лица в возрасте 55-64 лет)

У грызунов, содержащихся на низкокалорийной диете, 80-90% из изученных в эксперименте параметров проявляло признаки замедленного старения. Специального внимания заслуживают также данные о том, что у таких животных выше уровень апоптоза, выбраковывающего пренеопластические (предопухольевые) клетки, замедлено накопление мутаций и развитие «возрастной патологии». Вместе с тем демографическое исследование, проведенное в Австралии на 4677 мужчинах и 4563 женщинах, показало, что после 70 лет полные (имеющие избыточный вес) люди живут дольше людей с нормальным телосложением. По мнению исследователей, в преклонном возрасте люди сталкиваются с иными факторами риска в сравнении с молодыми людьми и наличие избыточных жировых отложений (запасов) в организме может иметь положительное значение.

Приведенные данные говорят в пользу питания, сбалансированного по основным компонентам. Главным же правилом остается пониженная общая калорийность. Каковы возможные механизмы положительного действия низкокалорийного питания на старение? Ответ прост: речь может идти не о пользе низкокалорийной диеты, а о вреде переедания.

Статистика показывает, что защитное действие семейного образа жизни, во-первых, распространяется на все возрасты и, во-вторых, проявляется в отношении подавляющего большинства причин смерти, включая сердечно-сосудистые заболевания, рак, аппендицит, туберкулез, болезни органов пищеварения.

Механизм действия **семейного образа жизни**, видимо, достаточно сложен. Об этом свидетельствуют данные об исходе такого заболевания, как острый инфаркт миокарда у семейных и не имеющих семьи людей. В больницах при этом заболевании погибают 19,7%

Источник KingMed.info

женатых и 26,7% неженатых мужчин, 23,3% замужних и 37,4% незамужних женщин. Среди перенесших инфаркт миокарда половина неженатых мужчин погибают в первые пять лет, тогда как женатых - в первые девять лет (рис. 8.95). Для замужних женщин этот период составляет 10, а незамужних - 6 лет.

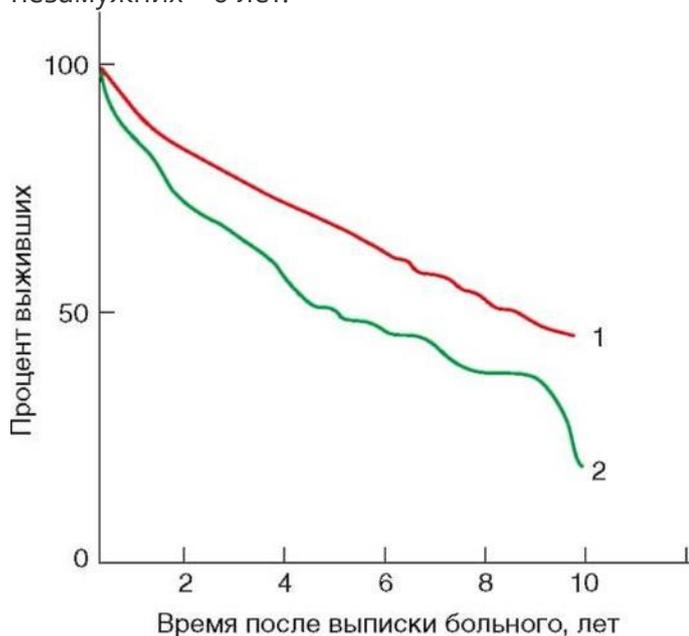


Рис. 8.95. Связь между выживанием мужчин после перенесенного инфаркта миокарда и семейным положением: 1 - женатые; 2 - неженатые

Конкретные пути благотворного влияния семейной жизни не установлены. Возможно, речь идет о благоприятной психоэмоциональной обстановке, сглаживании стрессовых ситуаций. Следует подумать также об особенностях функции желез внутренней секреции.

8.6.4. ВЛИЯНИЕ НА ПРОЦЕСС СТАРЕНИЯ ЭНДОЭКОЛОГИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ

С понятием **экология** мы связываем обычно совокупность абиоло-гических(тических) и биологических(тических) факторов, действующих на организм в среде его обитания, т.е. внешние условия жизни. Но сходные по своей природе факторы, например микробные, могут действовать на организм и изнутри. Действительно, определенные штаммы бактерий, обитающие в кишечнике, являются обязательными симбионтами животных и человека, причем им принадлежит важная роль в осуществлении ряда функций (обмен витаминов и др.). Все это дает основание судить об **эндоэкологии организма**.

В последние десятилетия технические возможности позволяют, с одной стороны, получать и содержать животных, полностью лишенных обычной для них внутренней микрофлоры (гнотобионты), а с другой - произвольно заселять тот же кишечный тракт специальными штаммами бактерий. Есть данные, указывающие на увеличение средней и максимально регистрируемой продолжительности жизни безмикробных животных и замедлении скорости старения. Возможное объяснение этому факту кроется в особенностях функционирования иммунной системы.

8.7. гипотезы, объясняющие механизмы старения

Геронтология знает не менее 500 гипотез, объясняющих и первопричину, и механизмы старения организма. Подавляющее большинство их не выдержало проверки временем и представляет чисто исторический интерес. К ним, в частности, относятся гипотезы, связывающие старение с

Источник KingMed.info

расходом особого вещества клеточных ядер, страхом смерти, утратой некоторых невосполняемых веществ, получаемых организмом в момент оплодотворения, самоотравлением продуктами жизнедеятельности, токсичностью продуктов, образуемых под действием микрофлоры толстого кишечника. Гипотезы, представляющие научную ценность в наши дни, соответствуют одному из двух главных направлений.

Некоторые авторы рассматривают старение как **стохастический процесс возрастного накопления «ошибок»**, неизбежно случающихся в ходе обычных процессов жизнедеятельности, а также **повреждений биологических механизмов** под действием внутренних (спонтанные мутации) или внешних (ионизирующее облучение) факторов. Стохастичность обусловлена случайным характером изменений во времени и локализации в организме. В различных вариантах гипотез данного направления первостепенная роль отводится разным внутриклеточным структурам, от первичного повреждения которых зависят функциональные расстройства на клеточном, тканевом и органном уровнях. Прежде всего, это генетический аппарат клеток (гипотеза соматических мутаций).

Многие исследователи связывают начальные изменения старения организма с изменениями строения и, следовательно, физико-химических и биологических свойств макромолекул: ДНК, РНК, белков хроматина, цитоплазматических и ядерных белков, ферментов. Особо выделяют также липиды клеточных мембран, часто повреждаемые свободными радикалами. Сбои в работе рецепторов, в частности, клеточных оболочек, нарушают эффективность регуляторных механизмов, что приводит к рассогласованию процессов жизнедеятельности.

К рассматриваемому направлению относятся также гипотезы, усматривающие первооснову старения в нарастающем с возрастом **износе структур** в диапазоне от макромолекул до организма в целом, приводящем в конце концов к состоянию, не совместимому с жизнью. Такое представление, однако, слишком прямолинейно. Напомним, что возникновению и накоплению мутационных изменений в ДНК противостоят природные антимутационные механизмы, а вредные последствия образования свободных радикалов снижаются благодаря функционированию антиоксидантных механизмов. Таким образом, если «концепция износа» биологических структур правильно отражает сущность старения, то итог в виде большей или меньшей скорости старческих изменений возраста, в котором у разных людей эти изменения становятся очевидными, является следствием наложения разрушительных и защитных процессов. В этом случае гипотеза износа с неизбежностью включает в себя такие факторы, как генетическая предрасположенность, условия и даже образ жизни, от которых, как мы видели, зависит скорость старения.

Второе направление представлено **генетическими или программными гипотезами**, согласно которым процесс старения находится под прямым генетическим контролем. Контроль, согласно одним взглядам, осуществляется с помощью **специальных генов** (см. раздел 8.6.1).

По другим взглядам, он связан с наличием специальных **генетических программ**, как это имеет место в отношении других стадий онтогенеза, например, эмбриональной.

В пользу запрограммированности старения приводят доказательства, многие из которых уже рассмотрены в п. 8.6.1. Обычно также ссылаются на наличие в природе видов, у которых вслед за размножением бурно нарастают изменения, приводящие животных к гибели. Типичный пример - тихоокеанские лососи (кета, нерка, горбуша), погибающие после нереста. Пусковой механизм в этом случае связан с изменением режима секреции половых гормонов, что следует рассматривать как особенность генетической программы индивидуального развития лососевых, отражающей их экологию, а не как универсальный механизм старения. Примечательно, что

Источник KingMed.info

кастрированная горбуша не нерестится и живет в 2-3 раза дольше. Именно в эти дополнительные годы жизни следует ожидать появления признаков старения в клетках и тканях.

Некоторые программные гипотезы основаны на допущении, что в организме функционируют **биологические часы**, в соответствии с которыми происходят возрастные изменения. Роль «часов» приписывают, в частности, вилочковой железе, прекращающей функционирование при переходе организма в зрелый возраст. Еще один кандидат - это нервная система, особенно некоторые ее отделы (гипоталамус, симпатическая нервная система), главным функциональным элементом которой являются первично стареющие нервные клетки. Допустим, что прекращение в определенном возрасте функций тимуса, что, несомненно, находится под генетическим контролем, становится сигналом начала старения организма. Это, однако, не означает генетического контроля процесса старения. В отсутствие тимуса ослабляется иммунологический контроль аутоиммунных процессов. Но для того чтобы эти процессы пошли, необходимы либо мутантные лимфоциты (повреждения ДНК), либо белки с измененной структурой и антигенными свойствами.

Генетические программы, в том числе и индивидуального развития, - всегда результат эволюции, закрепляемый в генофонде вида вследствие естественного отбора. На первый взгляд, естественный отбор должен благоприятствовать увеличению продолжительности жизни. В связи с этим приобретение видом в ходе эволюции генетической программы старения, обуславливающей неизбежность смерти, представляется маловероятным. Рассмотрим следующий пример. В природных условиях в первый год жизни сохраняется в живых лишь $\frac{1}{4}$ синиц каждого поколения. По истечении 2-го года от поколения остаются единицы, если это вообще происходит. В лабораторных условиях птицы достигают 9-летнего возраста. В таком случае практически невозможно объяснить, в силу каких обстоятельств естественный отбор мог формировать генетическую программу саморазрушения организма в процессе старения, рассчитанную на 7-8 лет жизни, которые синицами не проживаются.

Изложенное выше не исключает зависимости скорости старения и времени наступления старческих изменений от генетических факторов, однако этими факторами не являются специальные гены или программа. Рассмотрим еще один пример. Типичный признак хорей Гентингтона - сильный тремор (дрожание) головы и конечностей (пляска святого Вита). Симптомы этого наследственного заболевания обычно появляются в возрасте 35-39 лет, причем у мужчин позднее, чем у женщин. Различие в сроках появления болезни объясняется особенностями эволюции мужского и женского генотипов. У мужчин, имеющих по сравнению с женщинами большую продолжительность репродуктивного периода, давление отбора против соответствующего признака угасает с возрастом более медленно. Неблагоприятное фенотипическое действие гена, лежащего в основе хорей Гентингтона, в юношеском и зрелом возрасте подавлялось благодаря присутствию в геноме генов-модификаторов (см. п. 8.6.1).

Из представлений, складывающихся в последнее время и рассматривающих процесс старения как определяемый специальной программой, внимание привлекает **гипотеза фенотоза** (В.П. Скулачев). Автор гипотезы исходит из допущения, что, если в природе есть генетически определяемый физиологический механизм «самоубийства» на клеточном уровне (апоптоз), то вероятно, что аналогичный механизм существует и на уровне организма (фенотоз). Еще одно допущение, находящее подтверждение в результатах многочисленных научных исследований (см. 8.5.1), сводится к тому, что старение представляет собой запрограммированное ослабление с возрастом большой группы функций. В таком случае простейшим способом достижения указанного эффекта, безусловно характеризующего процесс старения, может быть уменьшение

Источник KingMed.info

количества клеток, из которых состоят органы и структуры, функция которых при старении снижается. В целом представляется следующая последовательность событий: онтогенетические часы → повышение уровня АФК (активные формы кислорода, свободные радикалы) в митохондриях → преобладание апоптоза над пролиферацией клеток → уменьшение числа клеток в органах и структурах → ослабление функций. Предположительно у млекопитающих супрахиазматическому ядру гипоталамуса отводится роль онтогенетических часов, эпифизу - роль органа, размножающего сигнал от супрахиазматического ядра, одному из гормонов эпифиза (мелатонину, уровень которого с возрастом закономерно снижается; мелатонин концентрируется в митохондриях и, возможно, существует внутримитохондриальный механизм, посредством которого мелатонин оказывает влияние на уровень АФК) - роль посредника между эпифизом и другими тканями.

Из двух принципиально различных направлений в объяснении старения как закономерной стадии онтогенеза в настоящее время большей популярностью пользуется представление, рассматривающее этот процесс как износ биологических структур, а не генетически предопределенное саморазрушение.

8.8. введение в биологию продолжительности жизни людей

Продолжительность жизни как житейская проблема связывается в нашем сознании обычно с геронтологией, т.е. с возможностью пережить период зрелости и дожить до преклонного возраста. На самом деле определенная вероятность умереть существует в любом возрасте. Это отражает, в частности, широкое использование наряду с **видовой** или **максимальной зарегистрированной продолжительностью жизни** такого показателя, как средняя продолжительность жизни. На рис. 8.91 приведена кривая дожития (интенсивности смертности) по возрастам для популяции людей.

Исключительный рост средней продолжительности жизни в экономически развитых странах в XX в. связан с повышением жизненного уровня, качества питания, жилья, медицинской помощи, улучшением санитарно-гигиенических и эпидемиологических условий. Можно сказать, что в основе демографической революции XX в. лежат социальные по своей природе факторы. Вместе с тем, несмотря на отмеченный рост средней продолжительности жизни людей, форма кривой дожития не меняется. Более того, такая же форма кривой воспроизводится в популяциях лабораторных животных, причем относящихся к разным типам животного царства (мышь, крыса, лошадь, головная вошь, плодовая муха).

Это означает, что продолжительность жизни, кроме условий существования, в немалой степени определяется биологическими факторами.

Они отражают особенности структурно-функциональной организации, индивидуального развития, объема приспособительных возможностей и в конечном счете выживаемость отдельных особей. Таким образом, продолжительность жизни отличается исключительной индивидуальной изменчивостью. Указанное свойство проявляется, в частности, в наличии иногда значительного разрыва в значениях средней и максимальной зарегистрированной продолжительности жизни. Так, один из рекордсменов среди долгожителей XX века японец Шигешио Изуми превысил 120-летний рубеж, тогда как средние показатели длительности жизни в Японии составляли 74,1 года для мужчин и 79,6 года для женщин.

8.8.1. СТАТИСТИЧЕСКИЙ МЕТОД ИЗУЧЕНИЯ ЗАКОНОМЕРНОСТЕЙ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ЖИЗНИ

Закономерности изменений длительности жизни в историческом времени или от популяции к популяции по понятной причине невозможно изучать на одном отдельно взятом организме. Такие исследования проводят в популяциях с применением статистических методов. Еще в 1825 г. Б. Гомперц описал зависимость увеличения смертности от возраста людей или животных. Позже оказалось, что в отличие от популяций лабораторных животных, вымирающих в силу достаточно комфортных условий существования в точном соответствии с уравнением Гомперца, часть людей умирает вне зависимости от возраста по причине производственных, транспортных и бытовых травм, природных катастроф, неблагоприятных изменений экологии. Указанная особенность была учтена У. Мейкемом, дополнившим уравнение Гомперца слагаемым, не зависящим от возраста. Обобщенный закон **Гомперца-Мейкема** выглядит следующим образом:

$$M_t = A + R_0 \exp(\alpha t),$$

где M_t - интенсивность смертности (вероятность смерти) людей возраста t (доля ежегодно умирающих в заданном возрасте), A - фоновая компонента смертности, одинаковая для всех возрастных групп (слагаемое Мейкема), $R_0 \exp(\alpha t)$ - *возрастная* компонента смертности, отражающая экспоненциальный рост смертности с возрастом (слагаемое Гомперца).

Закон Гомперца-Мейкема описывает изменение вероятности смерти в интервале возрастов от 20 до 80 лет.

Одна из особенностей уравнения Гомперца-Мейкема заключается в том, что оно выделяет в общей смертности две части, которые различаются по природе факторов, их определяющих. Вклад в конечное значение смертности первого слагаемого A определяется условиями жизни, тогда как вклад второго слагаемого $R_0 \exp(\alpha t)$ зависит от сопротивляемости (жизнеспособности) организма. **Фоновая компонента** смертности A является социально-контролируемой, а **возрастная компонента** $R_0 \exp(\alpha t)$ - социально-независимой. Соответственно, первую можно назвать **социальной**, вторую - **биологической**.

8.8.2. ВКЛАД СОЦИАЛЬНОЙ И БИОЛОГИЧЕСКОЙ КОМПОНЕНТ В ОБЩУЮ СМЕРТНОСТЬ В ИСТОРИЧЕСКОМ ВРЕМЕНИ И В РАЗНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ

Практическое применение закона Гомперца-Мейкема дает точное представление о природе факторов, обуславливающих различие в интенсивности смертности людей из разных популяций или же из одной популяции, но в разное историческое время. На рис. 8.96 показано, как изменялась общая смертность (1), а также социальная (2) и биологическая (3) ее компоненты в популяции 40-летних женщин Финляндии в интервале с 1890 по 1970 г., т.е. в период исключительного роста средней продолжительности жизни. Нетрудно видеть, что примерно 5-кратное снижение интенсивности смертности к 1970 г. полностью обусловлено уменьшением вклада социально-контролируемой компоненты. Ход кривых 1 и 2 практически совпадает. С другой стороны, доля возрастной компоненты, отражающая состояние биологических механизмов выживания, за описанный исторический период не менялась.

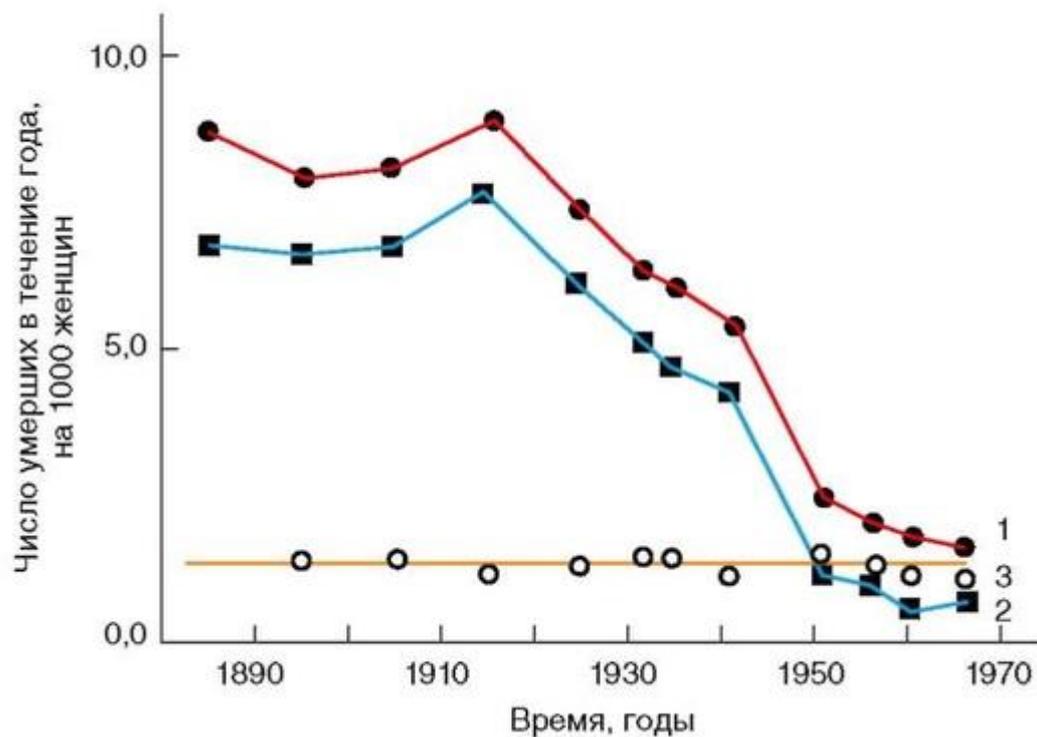


Рис. 8.96. Историческая динамика общей смертности и обеих ее компонент в популяции 40-летних женщин Финляндии (пояснения в тексте)

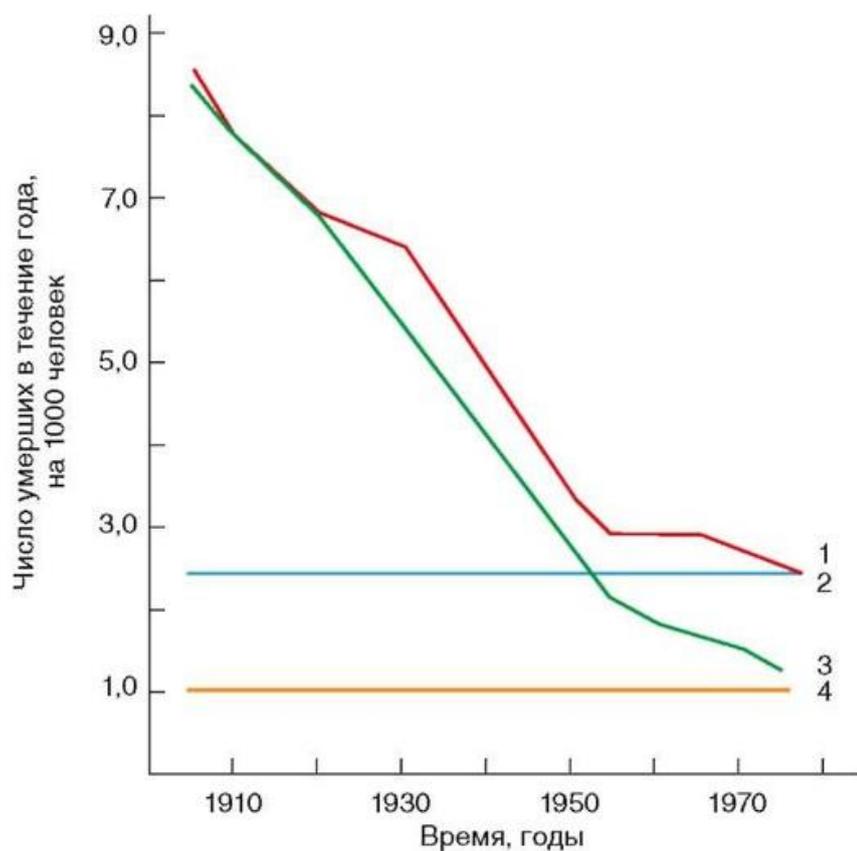


Рис. 8.97. Историческая динамика общей смертности и ее возрастной компоненты среди 40-летних мужчин и женщин (Италия, 1910-1970 гг.): 1 - общая смертность среди мужчин; 2 - возрастная компонента смертности среди мужчин; 3 - общая смертность среди женщин; 4 - возрастная компонента смертности среди женщин

Источник KingMed.info

Из представленных материалов вытекают два важных практических следствия. Во-первых, увеличение продолжительности жизни финок целиком связано с повышением жизненного уровня, улучшением социально-гигиенических условий, ростом эффективности профилактической и лечебной медицины. Во-вторых, дальнейшее увеличение длительности жизни в описываемой популяции не может быть достигнуто путем изменения социально-контролируемых факторов. Справедливость второго следствия подтверждается незначительным приростом средней продолжительности жизни среди населения Финляндии в последующее десятилетие. Так, если за 1969-1977 гг. названный показатель составлял для женщин Финляндии примерно 76,1 года, то в 1980 г. - 77,6 года.

Значение биологической компоненты в определении длительности жизни видно из сопоставления ее вклада в интенсивность смертности мужчин и женщин из итальянской популяции (рис. 8.97). Как и в предыдущем примере, за выбранный исторический период отмечается существенное снижение интенсивности общей смертности, причем и у мужчин, и у женщин. Достигнутый к середине 70-х гг. итог для женщин оказался выше, чем для мужчин, за счет биологических особенностей женского организма, что и нашло отражение в уровне возрастной компоненты смертности. Действительно, в 1978 г. средняя продолжительность жизни итальянок составляла 77,4 года, тогда как итальянцев - 70,7. Из материалов по итальянской популяции следует также, что дальнейшее приращение длительности жизни как мужчин, так и женщин требует воздействия на биологические механизмы выживания.

Различия в средней продолжительности жизни мужчин и женщин колеблются от популяции к популяции. Так, в США (1979), Финляндии и Франции (1980) они превышали 8 лет, тогда как в Греции (1981) составляли 4,5 года, а в Болгарии и Японии (1981) - 5,5 года. О зависимости возрастной компоненты общей смертности от биологических механизмов свидетельствуют межпопуляционные колебания ее значений в различных европейских странах, в которых достигнут примерно одинаковый уровень жизни (рис. 8.98).

Вопросы для самоконтроля

1. Назовите основные концепции эмбрионального развития и в чем состоит их суть.
2. Перечислите клеточные механизмы онтогенетического развития. Охарактеризуйте их роль в нормальном развитии и при формировании аномалий и пороков.
3. Как осуществляется детерминация и дифференцировка в ходе онтогенеза? Проиллюстрируйте изменение потенциалов клеточных групп в процессе развития.
4. Каковы интегративные механизмы развития? Какова их роль и на каких этапах онтогенеза они действуют?
5. Как осуществляется контроль развития? Какие группы генов и на каких этапах развития участвуют в процессе контроля?

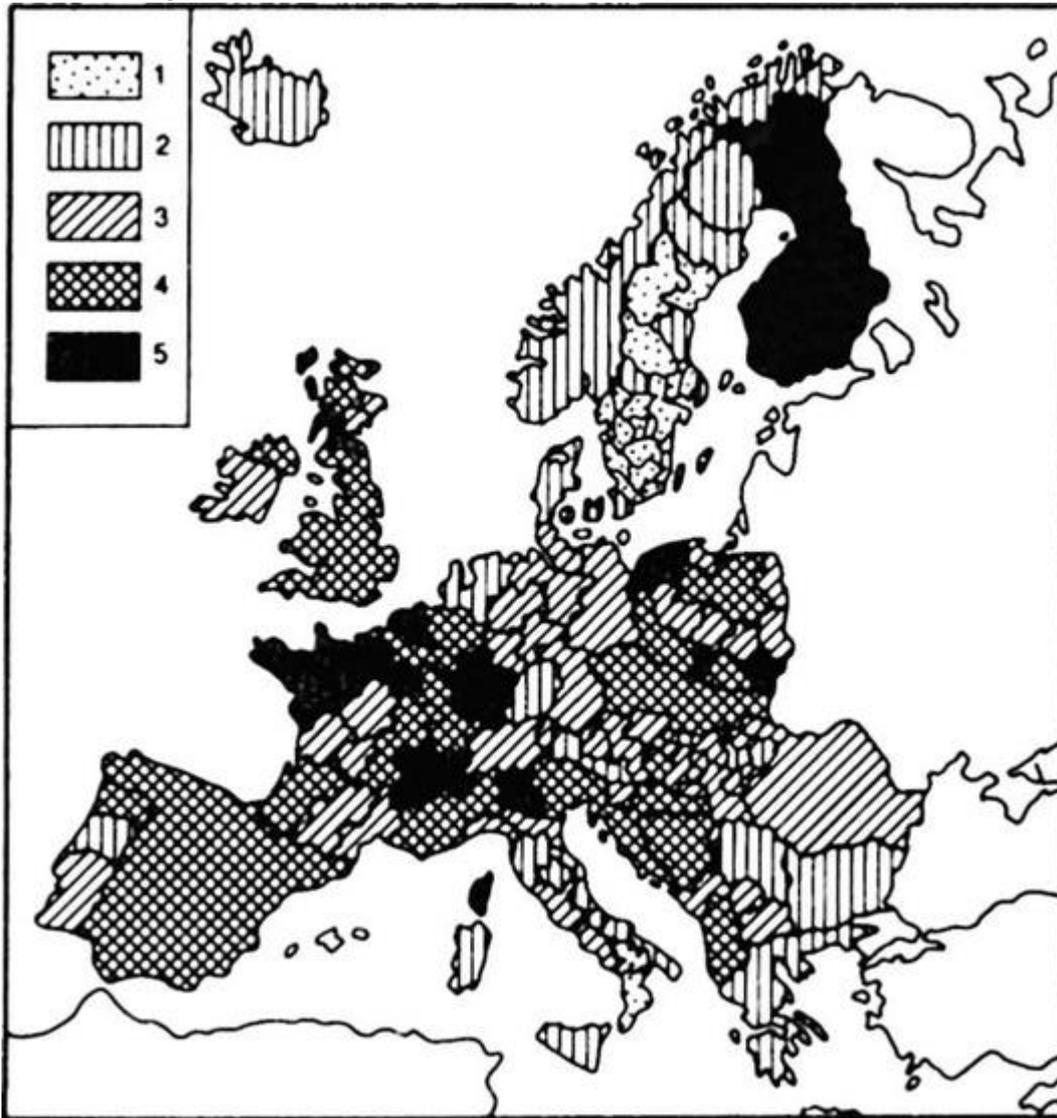


Рис. 8.98. Картограмма значений возрастной компоненты смертности 40-летних мужчин на территории Западной и Центральной Европы: 1 - низкий уровень ($0,00160 \text{ год}^{-1}$), 2 - пониженный уровень ($0,00161-0,002220 \text{ год}^{-1}$), 3 - средний уровень ($0,00221-0,00280 \text{ год}^{-1}$), 4 - повышенный уровень ($0,00281-0,00340 \text{ год}^{-1}$), 5 - высокий уровень (свыше $0,00341 \text{ год}^{-1}$)

6. Что такое морфогенез и какие сформулированы концепции для объяснения его механизмов?
7. В чем биологическое значение репарации в онтогенетическом развитии? Какие известны виды и механизмы репарации?
8. Что представляет собой старение? Каковы характеристики и проявления этого процесса и методы его оценки?
9. Какие факторы влияют на процесс старения?
10. Какие гипотезы, объясняющие механизмы старения, существуют и в чем их суть?

РОЛЬ НАРУШЕНИЙ МЕХАНИЗМОВ ОНТОГЕНЕЗА В ПАТОЛОГИИ ЧЕЛОВЕКА

9.1. критические периоды в онтогенезе человека

С конца XIX в. существует представление о наличии в онтогенетическом развитии периодов наибольшей чувствительности к повреждающему действию разнообразных факторов. Эти периоды получили название **критических**, а повреждающие факторы - **тератогенных**. Единодушия в оценке различных периодов как более или менее устойчивых не существует.

Некоторые ученые полагают, что наиболее чувствительными к самым разнообразным внешним воздействиям являются периоды развития, характеризующиеся активным клеточным делением или интенсивно идущими процессами дифференциации частей (структур) развивающегося организма. П.Г. Светлов, в середине XX в. внесший большой вклад в разработку проблемы, считал, что критические периоды совпадают с моментом детерминации, который определяет конец одной и начало другой, новой цепи процессов дифференциации, т.е. с моментом переключения направления развития. По его мнению, в это время имеет место снижение регуляторной способности.

Критические периоды не рассматривают как наиболее чувствительные к факторам среды вообще, т.е. результат воздействия конкретного фактора зависит от механизма этого воздействия. Вместе с тем установлено, что в некоторые моменты развития зародыши чувствительны к ряду внешних факторов, причем их реакция на разные воздействия бывает однотипной.

Критические периоды для различных органов и областей тела не совпадают друг с другом по времени. Причина нарушения развития зачатка - большая чувствительность его в данный момент к действию патогенного фактора, чем у других органов. При этом влияние разных факторов может вызвать одну и ту же аномалию. Это свидетельствует о неспецифическом ответе зачатка на повреждающие воздействия.

В то же время некоторая специфичность тератогенных факторов выражается в том, что, будучи различными, они оказывают максимальное повреждающее действие на одних и тех же стадиях развития. Чувствительность различных органов к повреждающим воздействиям зависит от стадии эмбриогенеза (рис. 9.1).

Развивающийся организм можно уподобить большому вееру. Достаточно небольших нарушений у его основания, чтобы вызвать большие изменения во всем веере. Чем раньше возникает повреждение, тем грубее бывают пороки развития. Одно из объяснений подобного феномена - действие механизма эмбриональной индукции в развитии зародыша (см. п. 8.2.8). Первичная эмбриональная индукция охватывает весь зародыш, а каждая последующая становится все более локальной. Кроме того, следует помнить о каскадном характере индукционных процессов. Действие тератогенных факторов во время эмбрионального (с 3 до 8 нед) периода может привести к врожденным уродствам, а при их действии в фетальном периоде возникают малые морфологические изменения, задержка роста и дифференциации, недостаточность питания плода и другие функциональные нарушения.

Факторы, оказывающие повреждающее действие, не всегда представляют собой чужеродные для организма вещества или воздействия. Это могут быть и закономерные влияния среды, обеспечивающие обычное нормальное развитие, но в других концентрациях, с другой силой, в

Источник KingMed.info

другое время. К ним относят кислород, питание, температуру, соседние клетки, гормоны, индукторы, давление, растяжение, электрический ток и проникающее излучение.

П.Г. Светлов установил **два общих критических периода** в развитии всех плацентарных млекопитающих. Первый из них совпадает с процессом имплантации зародыша, второй - с формированием плаценты. Имплантация приходится на первую фазу гастрюляции, у человека - на конец 1-й - начало 2-й недели. Вторым критический период продолжается с 3-й по 6-ю неделю. По другим источникам, он включает в себя также 7-ю и 8-ю недели. В это время идут процессы нейруляции и начальные этапы органогенеза.

Повреждающее действие во время имплантации приводит к ее нарушению, ранней смерти зародыша и его абортации. По некоторым данным, 50-70% оплодотворенных яйцеклеток не развиваются в период имплантации. По-видимому, это происходит не только от действия патогенных факторов в момент начавшегося развития, но и в результате грубых наследственных аномалий.

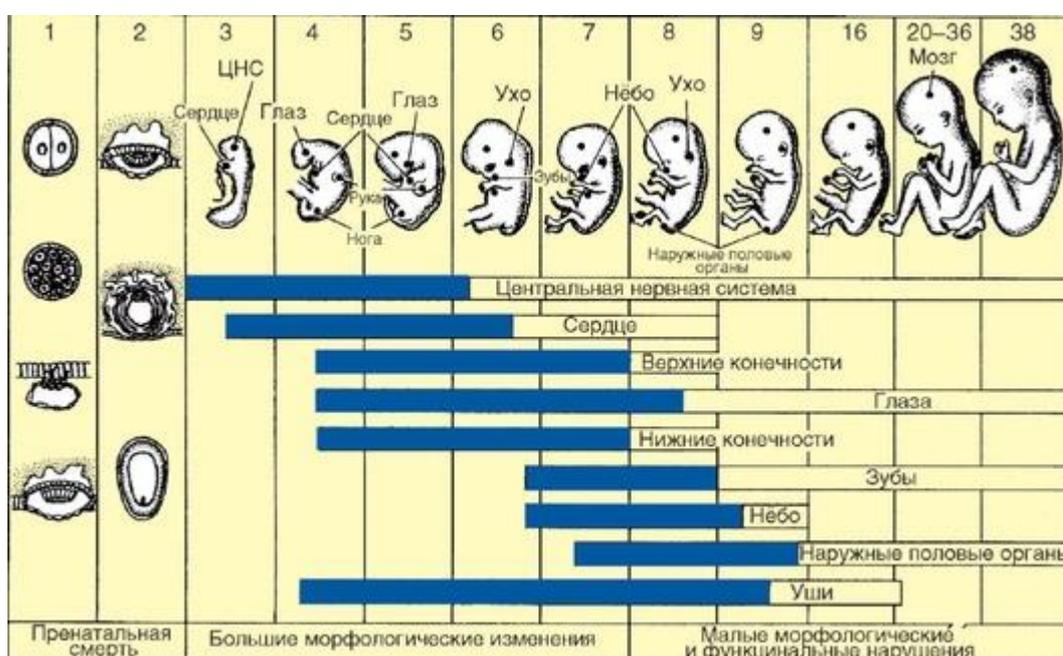


Рис. 9.1. Чувствительность развивающегося зародыша человека к повреждающим факторам. Заштрихованным отрезком обозначен период наиболее высокой чувствительности, незаштрихованным - период меньшей чувствительности; 1-38 - недели внутриутробного развития

9.2. классификация врожденных пороков развития

Врожденными пороками развития называют такие структурные нарушения, которые возникают до рождения (в пренатальном онтогенезе), выявляются сразу или через некоторое время после рождения и вызывают нарушение функции органа. Последнее отличает врожденные пороки развития органов от **аномалий**, при которых нарушение функции обычно не наблюдается. Врожденные пороки развития являются причиной приблизительно 20% смертей в неонатальном периоде, а также занимают значительное место в практике акушерства и гинекологии, медицинской генетике, детской хирургии и ортопедии, патологической анатомии. В связи с этим знания по вопросам профилактики, этиологии, патогенеза, лечения и прогнозирования врожденных пороков развития имеют большое значение.

Источник KingMed.info

Знакомство с закономерностями и механизмами нормального морфогенеза в процессе эмбрионального развития позволяет понять, какого рода нарушения могут привести к возникновению пороков. Кроме того, пороки развития представляют собой как бы природные эксперименты, обнаруживающие скрытые от глаз процессы. Таким образом, сами эти пороки представляют собой материал для научных поисков и обобщений. Примером могут служить врожденные пороки развития, напоминающие некоторые черты строения, свойственные другим видам взрослых позвоночных животных или их зародышам. Они позволяют осознать теснейшую эволюционно-биологическую связь человека с животными и использовать ее для иллюстрации закономерностей макроэволюции, а также для формирования естественно-исторического взгляда на возникновение и развитие человека.

Существует несколько различных критериев, на основе которых классифицируют врожденные пороки развития. Основные из них следующие: причина, стадия, на которой проявляется воздействие, последовательность их возникновения в организме, распространенность и локализация. Мы дополнительно обращаем внимание на филогенетическую значимость и нарушения основных клеточных механизмов, приводящие к пороку развития.

В зависимости от причины все врожденные пороки развития делят на **наследственные, экзогенные (средовые) и мультифакторные.**

Наследственными называют пороки, вызванные изменением генов или хромосом в гаметах родителей, в результате чего зигота с самого возникновения несет генную, хромосомную или геномную мутацию.

Генетические факторы начинают проявляться в процессе онтогенеза последовательно, путем нарушения биохимических, субклеточных, клеточных, тканевых, органных и организменных процессов. Время проявления нарушений в онтогенезе может зависеть от времени вступления в активное состояние соответствующего мутированного гена, группы генов или хромосом. Последствия генетических нарушений зависят также от масштаба и времени проявления нарушений.

Экзогенными называют пороки, возникшие под влиянием тератогенных факторов (например, лекарственные препараты, пищевые добавки, вирусы, промышленные яды, алкоголь, табачный дым и др.), т.е. факторов внешней среды, которые, действуя во время эмбриогенеза, нарушают развитие тканей и органов.

Историческими вехами в изучении этого вопроса стали работы Ц. Сток-карта в начале XX в., впервые показавшего тератогенное действие алкоголя, и работы офтальмолога Н. Грегга, открывшего тератогенное действие вируса краснухи (1941). Трагическое событие произошло в 1959-1961 гг., когда после применения беременными женщинами прошедшего все требуемые доклинические и клинические исследования (испытания) нейрореплика талидомида в ряде стран Запады родились несколько десятков тысяч детей с тяжелыми врожденными пороками (обычно отсутствие дистальных, начиная с предплечья или голени, частей верхних и нижних конечностей). Дело в том, что эмбриотоксическое действие препарата проявлялось у приматов и не проявлялось у грызунов и других наиболее часто используемых лабораторных животных.

Поскольку средовые экзогенные факторы в конечном итоге оказывают влияние на биохимические, субклеточные и клеточные процессы, механизмы возникновения врожденных пороков развития при их действии такие же, как при генетических причинах. В результате фенотипическое проявление экзогенных и генетических пороков бывает весьма сходным, что

Источник KingMed.info

обозначается термином **фенокопия**. Для выявления истинных причин возникновения пороков в каждом конкретном случае следует привлекать множество различных подходов и критериев.

Мультифакторными называют пороки, которые развиваются под влиянием как экзогенных, так и генетических факторов. Вероятнее всего бывает так, что экзогенные факторы нарушают наследственный аппарат в клетках развивающегося организма, а это приводит по цепочке ген-фермент (белок)-признак к фенокопиям. Кроме того, к этой группе относят все пороки развития, в отношении которых четко не выявлены генетические или средовые причины.

Установление причины врожденных пороков имеет большое прогностическое значение для носителя этих пороков и профилактическое - в отношении последующего потомства. В настоящее время медицинские генетики и патологоанатомы существенно продвинулись в области так называемого синдромологического анализа. **Синдромологический анализ** - обобщенный анализ фенотипа больных с целью выявления устойчивых сочетаний признаков. Овладение им помогает в установлении причины возникновения пороков и основных патогенетических механизмов развития пороков.

В зависимости от стадии, на которой проявляются генетические или экзогенные воздействия, все нарушения, происходящие в пренатальном онтогенезе, подразделяют на **гаметопатии, бластопатии, эмбриопатии** и **фетопатии**. Если нарушения развития на стадии зиготы (**гаметопатия**) или бластулы (**бластопатия**) очень грубые, то дальнейшее развитие, видимо, не идет и зародыш погибает. **Эмбриопатии** (нарушения, возникшие в период от 15 сут до 8 нед эмбрионального развития) как раз составляют основу врожденных пороков, о чем уже говорилось выше. **Фетопатии** (нарушения, возникшие после 10 нед эмбрионального, внутриутробного развития) представляют собой такие патологические состояния, для которых, как правило, характерны не грубые морфологические нарушения, а отклонения общего типа: в виде снижения массы, задержки интеллектуального развития, различных функциональных нарушений. Очевидно, что наибольшее клиническое значение имеют эмбриопатии и фетопатии.

В зависимости от последовательности возникновения различают **первичные** и **вторичные** врожденные пороки. Первичные пороки обусловлены непосредственным действием тератогенного фактора, вторичные пороки представляют собой осложнения первичных пороков развития и всегда патогенетически с ними связаны. Выделение первичных пороков из комплекса нарушений, обнаруженных у пациента, имеет большое значение для медико-генетического прогноза, поскольку риск определяется по основному пороку.

По распространенности в организме первичные пороки подразделяют на **изолированные**, или одиночные, **системные**, т.е. в пределах одной системы, и **множественные**, т.е. в органах двух систем и более. Комплекс пороков, вызванный одной ошибкой морфогенеза, называют **аномаладом**.

В основу классификации врожденных пороков, принятой Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ), положен анатомо-физиологический принцип (по месту локализации).

По клеточным механизмам, которые преимущественно нарушены при том или ином врожденном пороке развития, можно выделить пороки, возникшие в результате нарушения размножения клеток, миграции клеток или органов, сортировки клеток, дифференцировки, а также гибели клеток. Нарушение перечисленных клеточных механизмов может привести к слишком малым или, наоборот, слишком большим размерам органов или их частей, к недостаточному или, напротив, очень сильному рассасыванию тканей в органах, к изменению

положения отдельных клеток, тканей или органов относительно других клеток, тканей и органов, к нарушениям дифференцировки, так называемым дисплазиям (см. гл. 8).

По филогенетической значимости можно все врожденные пороки развития разделить на филогенетически обусловленные и не связанные с предшествующим филогенезом, т.е. нефилогенетические.

Филогенетически обусловленными называют такие пороки развития человека, которые по виду напоминают органы животных из типа Хордовые и подтипа Позвоночные. Если они напоминают органы пред-ковых групп или их зародышей, то такие пороки называют **анцестраль-ными (предковыми)** или **атавистическими**. Примерами могут служить несращение дужек позвонков, шейные и поясничные ребра, несращение твердого неба, персистирование (сохранение) висцеральных дуг и др. Если пороки встречаются у эволюционно родственных групп организмов и являются выражением закона гомологических рядов (сформулирован Н.И. Вавиловым), то их называют **аллогенными**. К последним можно отнести ахондроплазию, гемофилию, альбинизм, синдром Дауна. Филогенетически обусловленные пороки показывают генетическую связь человека с другими Хордовыми и(или) Позвоночными, а также помогают понять механизмы возникновения пороков в ходе эмбрионального развития.

Нефилогенетическими являются такие врожденные пороки людей, которые не имеют аналогов у нормальных предковых или современных форм хордовых и позвоночных животных. К таким порокам можно отнести, например, двойниковые уродства, эмбриональные опухоли (тератомы), которые появляются в результате нарушения эмбриогенеза, не отражая филогенетических закономерностей.

9.3. значение нарушения механизмов онтогенеза в формировании пороков развития

При изложении клеточных механизмов эмбриогенеза в гл. 8 приводились примеры, иллюстрирующие, как нарушение этих механизмов может

приводить к формированию врожденных пороков развития. В данной главе описаны лишь некоторые пороки развития тех органов, морфогенез которых был рассмотрен в гл. 7. Их следует рассматривать как отдельные примеры, подкрепляющие обоснованность изучения онтофилогенетических предпосылок формирования врожденных пороков развития.

Различные варианты **расщелины позвоночника** как бы соответствуют очень древнему примитивному строению его у низших позвоночных. Скрытая расщелина позвоночника (*spina bifida occulta*) - это дефект в виде аплазии спинных дужек и остистых отростков (рис. 9.2, а). Дужки позвонков при нормальном развитии образуются из мигрирующих клеток склеротомов под индуцирующим влиянием со стороны хорды, спинного мозга и спинномозговых узлов. При описываемом пороке происходит остановка их развития, что, вероятно, может быть связано с нарушением необходимых индуцирующих воздействий.

Скрытые формы расщелины первого крестцового позвонка встречаются среди людей с частотой около 10%, а первого шейного - с частотой около 3%. Как правило, спинной мозг и спинномозговые нервы не изменены и не имеется никаких серьезных нарушений. Кожа над дефектом также не изменена, но иногда порок можно заподозрить по небольшой ямочке или пучку волос над ним. Чаще всего дефект выявляется как рентгенологическая находка. О возможной наследственной природе порока свидетельствуют такие данные: скрытые формы расщелины дужек позвонков встречаются у 14,3% матерей, у 6,1 % отцов и у 26,8% sibсов пробандов с различными формами несращения нервной трубки и позвонков.

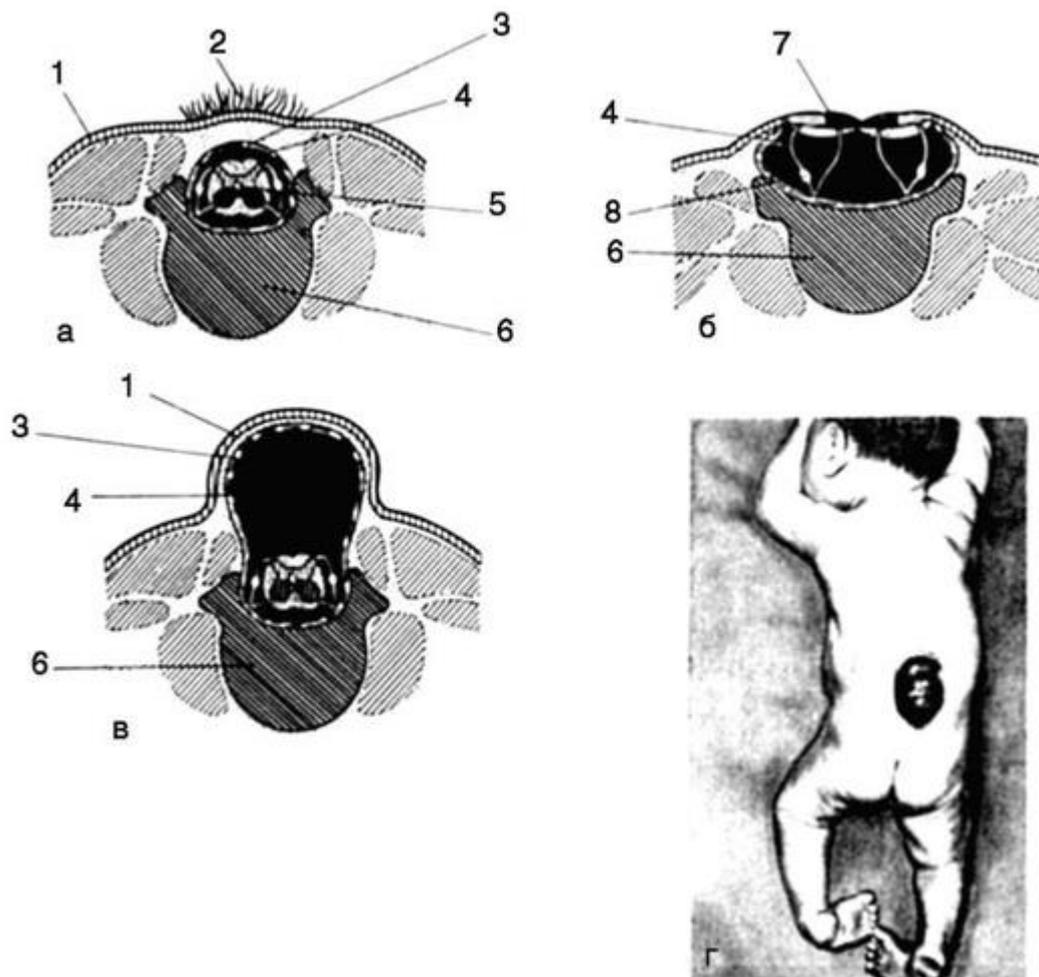


Рис. 9.2. Различные варианты расщелины позвоночника: а - скрытая расщелина; б - полный рахисхиз; в, г - кистозная расщелина; 1 - кожа; 2 - пучок волос; 3 - твердая мозговая оболочка; 4 - субарахноидальное пространство; 5 - спинной мозг; 6 - тело позвонка; 7 - открытая нервная пластинка; 8 - спинной чувствительный узел

Более грубый порок - кистозная расщелина позвоночника (*spina bifida cystia*) и полный рахисхиз. Кистозная расщелина характеризуется наличием грыжевого мешка (рис. 9.2, в, г), а полный рахисхиз - дефектом мозговых оболочек, мягких покровов и лежащим открыто в виде пластинки или желоба спинным мозгом (рис. 9.2, б). В последнем случае нервные валики не соединяются в трубку либо из-за ослабления индуцирующего влияния подлежащей хорды, либо из-за действия тератогенных факторов на нейроэпителиальные клетки.

Пороки развития звукопроводящей системы среднего уха могут быть причиной врожденного нарушения слуха наряду с нарушениями других отделов слухового анализатора. Врожденная фиксация стремечка приводит к врожденной проводниковой глухоте при нормальном развитии уха в остальном. Дефекты молоточка и наковальни часто сочетаются с синдромом первой дуги. Механизмами возникновения подобных пороков развития могут быть нарушения рассасывания (гибели) молодой соединительной ткани в барабанной полости и остановка развития всей области первой висцеральной дуги. Большинство видов врожденной глухоты обусловлены генетически и носят наследственный характер.

Атрезия наружного слухового прохода возникает из-за ослабления процесса канализации (рассасывания пробки наружного слухового прохода) в области первого жаберного кармана.

Этот врожденный порок также часто сочетается с синдромом (аномаладом) первой дуги - аномалад.

Среди **пороков развития челюстно-лицевой области** наиболее распространены врожденные расщелины губы и неба. Частота типичных расщелин составляет 1:700-1:1000 новорожденных. Чаще подобные дефекты встречаются у мальчиков, у них же наблюдаются более тяжелые формы патологии. Расщелины губы и неба могут быть изолированными, нередко также и сочетания расщелины неба с расщелиной губы (рис. 9.3).

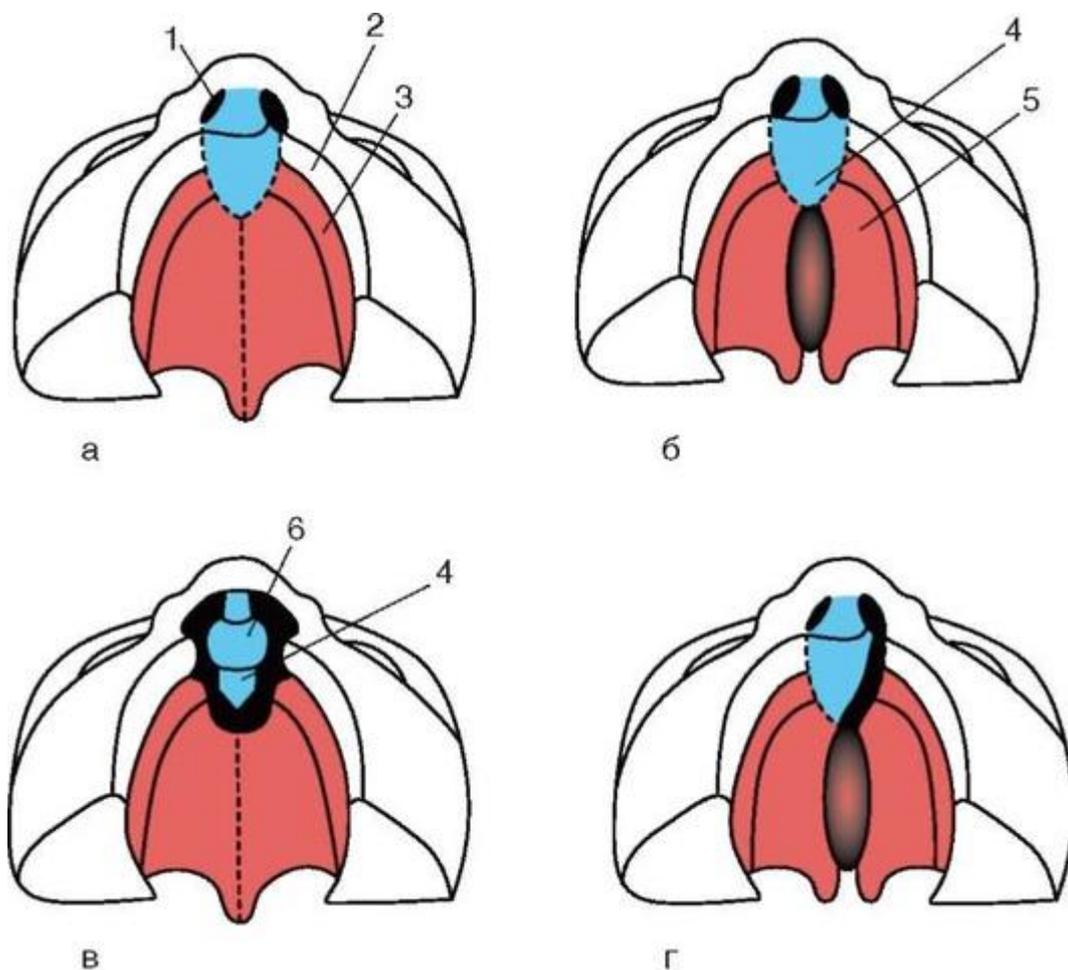


Рис. 9.3. Различные варианты расщелины твердого неба и губы: а - односторонняя расщелина губы; б - неполная расщелина неба; в - неполная двусторонняя расщелина губы и неба; г - полная односторонняя расщелина губы и неба; 1 - ноздря; 2 - губа; 3 - верхняя челюсть; 4 - первичное небо; 5 - вторичное небо; 6 - фильтр

Эти нарушения весьма разнообразны по своей природе. Они могут быть моногенными, быть одним из компонентов множественных пороков при хромосомных нарушениях, иметь мультифакторную природу или быть следствием воздействия средовых факторов. Врожденные расщелины имеют разнообразную форму и протяженность, однако во всех случаях причинами пороков являются нарушения размножения, перемещения, дифференцировки и других клеточных механизмов при срастании закладок в ходе формирования верхней челюсти, твердого неба, верхней губы. Значительную роль в патогенезе таких дефектов играет нарушение эпителиально-мезенхимальных взаимодействий в зачатках образующихся структур.

Патологии формирования зубов также связаны с нарушением клеточных процессов и индукционных взаимодействий. Механизмы формирования пороков развития зубов можно

Источник KingMed.info

лучше понять, если рассматривать этот процесс на разных стадиях. Так, на начальном этапе эпителиальная зубная пластинка индуцирует закладку и формирование зубных зачатков.

Аномалии зубной пластинки в зависимости от их объема приводят к **адентии** или **гиподентии** (отсутствию всех или части зубов).

К гиподентии может приводить также нарушение пролиферации клеток зубного сосочка, что обуславливает замедление или остановку развития эмалевого органа. Избыточная пролиферация клеток зубного сосочка может иметь следствием **тауродентизм** (рис. 9.4) - зубы с увеличенной пульповой камерой (**бычий зуб**).

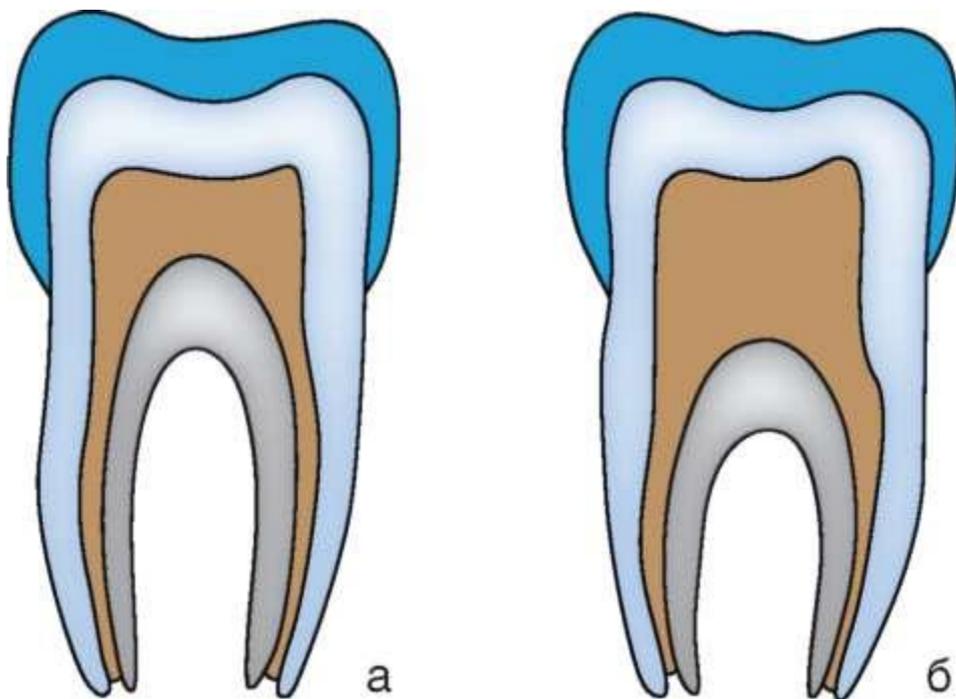


Рис. 9.4. Тауродентизм: а - нормальная пульповая камера; б - увеличенная пульповая камера

Результат нарушений на этапе гистогенеза - аномальная структура зубов. Так, неправильное развитие внутреннего эпителия эмалевого органа приводит к нарушению дифференцировки одонтобластов, и они теряют или, наоборот, приобретают избыточную способность стимулировать образование амелобластов. Вследствие этого может наблюдаться микроденития (уменьшенный размер коронки зуба), **макроденития** (более крупные, чем в норме, зубы), наличие добавочных бугорков на коронках зубов и другие аномалии.

На завершающих этапах формирования зубов возможны нарушения в виде **дисплазии** (аномалии развития в виде необразования) или чаще **гипоплазии** (недостаточного развития образования) дентина и эмали, а также нарушения их минерализации. Подобные же отклонения возможны и при формировании цемента.

Частота различных заболеваний зубов зависит от этиологии дефекта, от того какая генерация зубов вовлечена, наблюдаются также межпопуляционные различия. Так, частота агенезии молочных зубов составляет в среднем 1,4%, постоянных - от 1,6 до 10%. Чаще всего наблюдается отсутствие латеральных резцов, вторых малых коренных зубов и третьих моляров. Частота другой аномалии - тауродентизма демонстрирует значительные межрасовые и межэтнические различия. Увеличенная пульповая камера регистрируется у 0,5% японцев, 0,6-3,2% европейцев и 4,4% африканцев.

Пороки развития пищеварительной системы выражаются в недоразвитии (гипогенезия) или полном отсутствии развития (агенезия) участков кишечной трубки или ее производных, в отсутствии естественного отверстия, сужении канала, персистенции эмбриональных структур, незавершенном повороте и гетеротопии различных тканей в стенку желудочно-кишечного тракта.

Атрезии (заращения) и **стенозы** (сужения) встречаются с частотой примерно 0,8 на 1000 новорожденных. Существует несколько гипотез, объясняющих механизм их возникновения. По одной из них, это пер-систенция физиологической атрезии, заключающееся во временной закупорке просвета кишечной трубки на 6-й неделе развития в связи с нарушением реканализации. По другой - это сосудистая недостаточность. В эксперименте на собаках путем перевязки у плодов верхней брыжеечной артерии удалось получить некоторые формы атрезии и стеноз. Есть гипотеза внутриутробного воспалительного процесса. Этиология (причины) этих пороков гетерогенна (разнообразна). Среди изолированных пороков, по-видимому, большинство мультифакторны, а среди тех, что являются компонентами множественных врожденных пороков, значительная часть - результат хромосомных и генных мутаций.

Один из распространенных врожденных пороков средней кишки - незаращение проксимального отрезка внутрибрюшной части желточного протока и выпячивание стенки подвздошной кишки длиной от 1 до 15 см на расстоянии 10-25 см у детей и 40-80 см у взрослых от подвздошно-слепокишечной (баушниевой) заслонки. Этот порок получил название дивертикула Меккеля (по имени исследователя). Он обнаруживается примерно у 2% населения (в 80% случаев у мужчин). В половине случаев он диагностируется случайно, а в остальных случаях - в связи с воспалительными процессами, непроходимостью и кровотечениями кишечника. В 10% случаев дивертикул Меккеля сочетается с другими врожденными пороками. Некоторые варианты пороков развития эмбриональных структур желточного протока показаны на рис. 9.5.

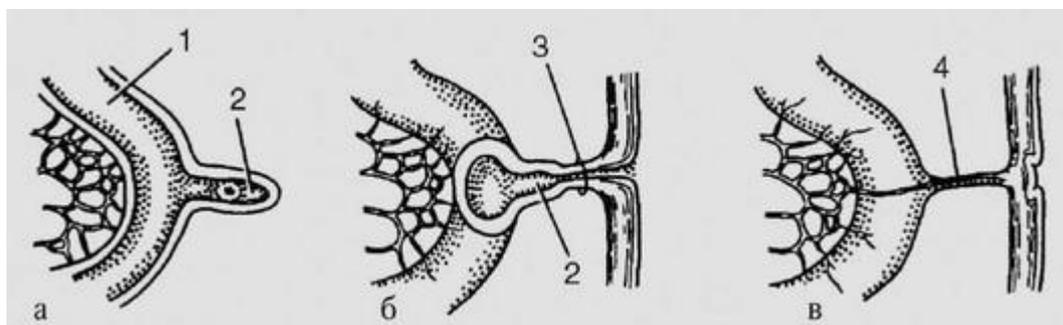


Рис. 9.5. Различные варианты остатков желточного протока: а - дивертикул Меккеля; б - пупочно-подвздошный свищ (персистенция желточного протока); в - фиброзный шнур, соединяющий подвздошную кишку с пупком; 1 - подвздошная кишка; 2 - дивертикул Меккеля; 3 - пупочно-подвздошный свищ; 4 - фиброзный шнур

Из многочисленных вариантов врожденных пороков прямой кишки и анального отверстия отметим персистенцию клоаки (рис. 9.6), возникающее в результате нарушения деления клоаки на мочеполовый синус и прямую кишку. Этот порок представляет собой недоразвитие мочеполовой перегородки и отражает эволюционно более древнее состояние органа.

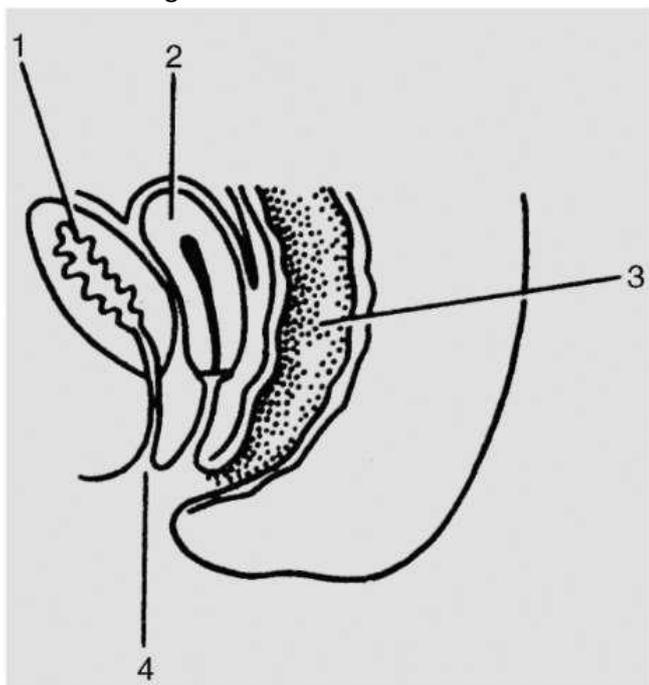


Рис. 9.6. Персистирование клоаки: 1 - мочевой пузырь; 2 - матка; 3 - прямая кишка; 4 - клоака

Врожденные **пороки сердечно-сосудистой системы** насчитывают десятки разновидностей. Частота встречаемости - 6-10 на 1000 новорожденных. Пороки сердечно-сосудистой системы бывают изолиро-

ванными и в сочетании с пороками других систем, т.е. множественными пороками. Изолированные пороки чаще мультифакторные, но известны также доминантные и рецессивные мутантные формы. Среди пороков, входящих в группу множественных, поражение сердечно-сосудистой системы часто является составной частью хромосомных и/или моногенных синдромов. Пороки сердечно-сосудистой системы в основном представляют собой либо недоразвитие каких-либо структур в эмбриогенезе, либо персистирование этих эмбриональных структур, в то время как они должны видоизменяться и принять дефинитивный вид. Иногда встречаются грубые нарушения топографии сердца и сосудов. Цитологическими механизмами, как и в случаях других пороков развития, служат, видимо, нарушения индукционных взаимодействий, размножения, миграции, адгезии или избирательной гибели клеток, значение которых в нормальном морфогенезе сердца и артерий было показано в п. 7.5.2.

Примеры некоторых врожденных пороков сердца и крупных артерий иллюстрируют вышеизложенные положения. **Эктопия сердца** - расположение сердца вне грудной полости. Различают шейную, абдоминальную и экстрастернальную эктопию. Шейную эктопию объясняют задержкой перемещения сердца с места формирования его зачатка в шейной области в переднее средостение. Этот порок приводит к гибели сразу после рождения. Он отражает онтофилогенетическую зависимость.

Правосторонняя дуга аорты развивается из эмбриональной правой дуги при редукции левой, или **двойные дуги аорты**, представленные двумя стволами, из которых один впереди трахеи, а другой позади пищевода. При изолированных пороках такого типа клинические проявления зависят от степени сдавления пищевода и трахеи. Оба связаны с нарушениями дифференцировки эмбриональных артериальных дуг.

Открытый артериальный (боталлов) проток (персистирование артериального протока) встречается с частотой около 1 на 1000 новорожденных.

Тетрада Фалло - стеноз легочного ствола, высокий дефект межжелудочковой перегородки, правосмещение устья аорты и приобретенная гипертрофия правого желудочка. Порок возникает в результате праводеленности артериального конуса и неслияния всех компонентов, образующих межжелудочковую перегородку. Частота - 0,7 на 1000 новорожденных, прогноз неблагоприятный (рис. 9.7).

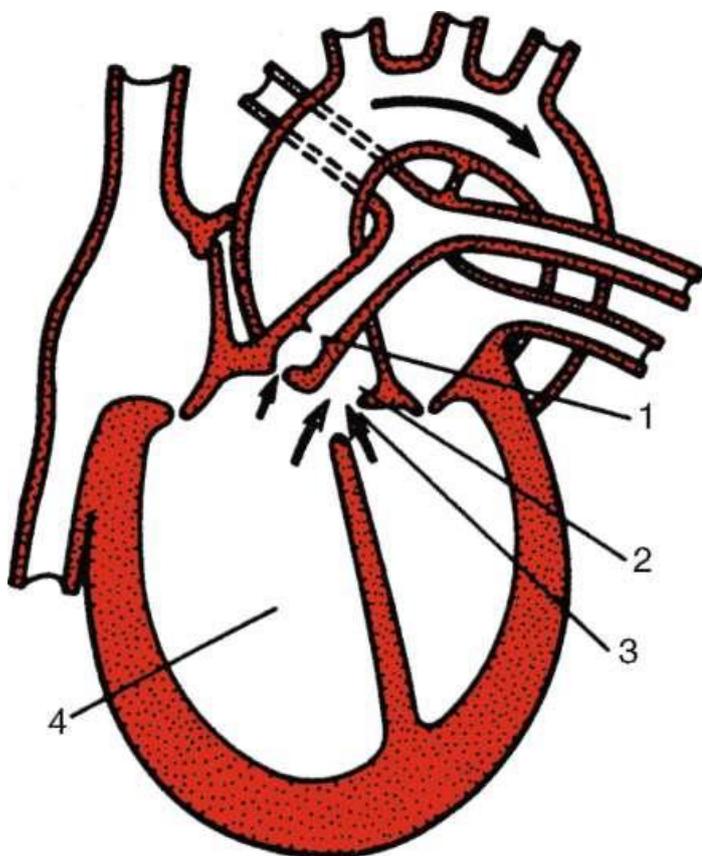


Рис. 9.7. Фронтальный срез сердца с тетрадой Фалло: 1 - стеноз легочного ствола; 2 - транспозиция аорты; 3 - дефект межжелудочковой перегородки; 4 - гипертрофия правого желудочка; стрелками показано направление движения крови

Вопросы для самоконтроля

1. Перечислите и охарактеризуйте критические периоды в онтогенезе человека.
2. Какие выделяют группы пороков человека? На чем основываются классификации пороков?
3. Приведите примеры пороков органов различных систем у человека. С нарушениями каких механизмов развития связано их формирование?