

*Боровая Т. Г.*

## **К ВОПРОСУ О РЕГУЛЯЦИИ ОВОГЕНЕЗА**

*Лаборатория анатомии микроорганизмов. Федеральное государственное бюджетное учреждение научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии Минздрава России им. Н. Ф. Гамалеи, Москва, e-mail: tbor@freemil.ru*

---

Женские половые клетки характеризуются быстро наступающим процессом старения. С этим связаны существенные хронологические, морфогенетические и регуляторные отличия их развития (овогенеза) от сперматогенеза. Наиболее сложными представляются такие особенности овогенеза, как: механизмы инициации пролиферации овогоний в эмбриогенезе (в отличие от сперматогоний, начинающих пролиферацию в постнатальном онтогенезе), причины блока 1-го деления мейоза на стадии профазы-1, возобновления мейоза и повторного блока накануне овуляции на стадии метафазы 2-го деления мейоза (метафаза-2), роль сперматозоидов в завершении мейоза овоцитов, а также биомеханика асимметричного деления овоцитов в мейозе. Хотя ни один из этих аспектов овогенеза еще не получил окончательного объяснения, хотелось бы привести некоторые новые данные, полученные по каждому из них. Основопологающей в современной трактовке механизма овогенеза считается генетическая программа клеток-предшественниц овоцитов, которая на последовательных стадиях овогенеза реализуется в развитие зрелой гаплоидной яйцеклетки под влиянием овоцитарных регуляторных факторов и факторов, синтезируемых клетками соматического микроокружения овоцитов.

Что касается первого вопроса — начало пролиферации овогоний (родоначальных клеток овогенеза) в эмбриональном периоде, на этот счет существует мнение [2], согласно которому важнейшим условием для инициации митотического деления овогоний является продукция клетками мезонефроса ретиноевой кислоты (РК). Ретиноевая кислота синтезируется из ретинальдегида с участием альдегиддегидрогеназ. Полагают, что в эмбриогенезе человека синтез РК происходит и в самих гонадах. Под влиянием РК, известной как эффективный морфоген, в X-хромосоме овогоний, накопивших специфические рецепторы РК, активируются *Stra8* (stimulated by retinoic acid gene 8) и *DAZL* (deleted in azoospermia-like) гены. Последние индуцируют синтез *SYCP3*-белка (synaptonemal complex protein3), который отвечает за начало пролиферации овогоний. Отсутствие или экспериментальное подавление экспрессии *Stra8*-гена приводят к блоку первой стадии овогенеза — пролиферации овогоний. У зародышей мужского пола инициация мейоза (начало фазы пролиферации сперматогоний) приходится, как известно, на пубертатный период постнатального онтогенеза, хотя в эмбриональном мезонефросе, как и у зародышей женского пола, синтезируется РК, а предшественники сперматогоний имеют соответствующие рецепторы. Однако при формировании мужской гонады происходят гидроксилирование ретиноевой кислоты ферментом *CYP26B1* и параллельно — подавление экспрессии *Stra8*-гена, расположенного на X-хромосоме сперматогоний, *NANOS2*-белком. В результате сперматогонии не иницируют мейоз, а продолжают пребывать в состоянии покоя вплоть до наступления полового созревания организма.

По проблеме блока мейоза в профазе 1-го деления созревания последующего возобновления мейоза известно, что с момента перехода мейоза из стадии пролиферации овогоний в первое мейотическое деление половые клетки, называемые теперь овоцитами, синтезируют достаточно высокий (пороговый) уровень так называемого белкового фактора, содействующего созреванию (maturation-promoting factor — MPF).

Это комплекс циклинзависимой киназы-1 (CDK1) и В-циклина, регулирующий дальнейшее продолжение клеточного цикла. При блоке профазы-1 данный комплекс переводится в неактивное состояние (рис. 1).

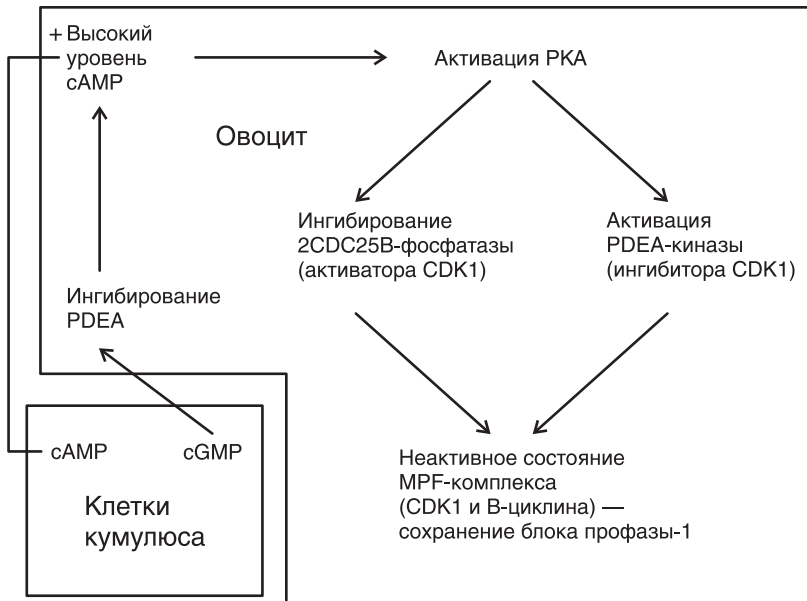


Рис. 1. Примерная схема поддержания блока профазы-1 мейоза: cAMP — циклический аденозинмонофосфат; PKA — протеинкиназа-A; MPF — фактор, способствующий созреванию; CDK1 — циклинзависимая киназа-1; PDEA — фосфодиэстераза-A; cGMP — циклический гуанозинмонофосфат

Ключевым механизмом инактивации MPF (и блока профазы-1) является высокий уровень циклического аденозинмонофосфата (сAMP) в овоците [3]. Пусковой механизм возрастания в овоците концентрации сAMP пока не раскрыт. Возобновление мейоза связано с падением концентрации сAMP. Эффект увеличивающейся концентрации сAMP при развитии блока профазы-1 реализуется в активации протеинкиназа-сигнального пути (PKA). Стимулированная активность PKA приводит одновременно к ингибированию CDC25B-фосфатазы — активатора CDK1 и активации WEE2-киназы — ингибитора CDK1, блокируя тем самым проявление эффектов MPF [3]. Показано, что связывание сAMP-фосфодиэстеразы, разрушающей сAMP, 3-изобутил-1-метилксантином (IBMX), а также стимуляция аденилилциклазы или гетеротримерных белков G-семейства, активирующих аденилилциклазу, предотвращают или задерживают

возобновление мейоза [3, 4, 5]. Выявлено, что сАМР, необходимый для поддержания блока мейоза, синтезируется не только в овоците, а поступает в овоцит и от клеток фолликулярного эпителия через систему *gap junctions*.

Ведущим механизмом восстановления мейоза после его блока в профазе-1 является гидролиз сАМР, медируемый фосфодиэстеразой (PDEA) и приводящий к редукции РКА-активности. РКА-активность также может регулироваться с помощью А-киназа-заякоривающих белков — АКАРs (что, как предполагают, имеет наибольшее значение в реинициации мейоза после блока в метафазе 2-го деления созревания). В данном случае после получения сигнала для завершения мейоза РКА осаждается с помощью АКАР1 в митохондриях, и таким образом становится возможным продолжение мейоза. Потенциальным ингибитором PDE3A овоцита, разрушающей сАМР (см. рис. 1), является циклический гуанозинмонофосфат (сGMP), поступающий в овоцит из клеток кумулюса по *gap junctions*. На сохранение блока мейоза сGMP действует не только путем ингибирования PDE3A, но и как вторичный посредник в системе активации протеинкиназ (аналогично сАМР). Интраовоцитарное содержание сGMP, как и уровень сАМР, уменьшается при спонтанном созревании овоцитов. Микроинъекции сGMP в преовуляторные фолликулы предотвращают завершение мейоза, а ингибирование гуанилатциклазной активности, метаболизирующей сGMP, напротив, индуцирует созревание овоцитов [3]. Таким образом, возобновление мейоза после блока в профазе-1 под влиянием волны лютропина происходит с участием по крайней мере двух основных механизмов — редукции сАМР под действием PDE3A, инактивации и перераспределения РКА путем ее связывания с АКАР1 (рис. 2).



Рис. 2. Примерная схема возобновления мейоза после блока профазы-1: АКАРs — белки, заякоривающие А-киназы, далее см. обозначения к рис. 1

Что касается блока мейоза в метафазе 2-го деления созревания, то его механизм, вероятно, во многом похож на блок профазы-1. Недавно стала известна важная роль в этом процессе так называемого цитостатического фактора овоцита (CSF). CSF вызывает надежное ингибирование метафазы-2 путем стабилизации MPF и APC/C-фактора (anaphase-promoting complex/cyclosome), а также инактивации E3-убигитин-лигазы, предназначенной для 26S-протеосомного разрушения циклина В и обеспечения метафаза-анафазного перехода.

В настоящее время продолжается активный поиск биологически активных соединений, которые синтезируются клетками соматического микроокружения овоцитов и передаются через gap junctions к овоцитам для поддержания блока мейоза. Сравнительно недавно показано важнейшее значение биологически активных соединений семейства эпидермального фактора роста (EGF). Однако их воздействие на мейоз, скорее всего, опосредованное, поскольку они вызывают созревание овоцита, находящегося в составе кумулюс-овоцитарного комплекса, и не оказывают эффекта на овоцит, выделенный из кумулюса.

В процессе овогенеза женская половая клетка подвергается «двум раундам» асимметричного деления, чтобы возникли гаплоидная яйцеклетка и два полярных тельца. В процессе неравноценного разделения цитоплазмы овоцита активно участвуют элементы цитоскелета, преимущественно изоформы актина  $\beta$  и  $\gamma$ . С помощью актиновых микрофиламентов происходит заблаговременное перемещение мейотического веретена на периферию (в кортекс) цитоплазмы овоцита как при образовании первого, так и второго полярных телц. Wang Q. et al. [7], используя иммуноцитохимический метод и конфокальную микроскопию, показали, что под влиянием хромосом в месте будущего выделения полярного тельца в кортикальной зоне овоцита собирается своеобразное «шапочка-кольцо» из актомиозиновых филаментов. Взаимодействие с веретеном деления приводит к выпячиванию «шапочки-кольца» и механическому формированию в его центре так называемой борозды разлома, регулирующей выделение полярного тельца. Показано, что важнейшее значение для формирования борозды разлома имеет фермент Fin-киназа — представитель семейства Src-киназ. Накапливаясь в месте будущего разлома, она индуцирует быструю полимеризацию актина и поддерживает в течение нужного времени его стабильное состояние. Разрушение  $\beta$ - и  $\gamma$ -изоформ цитоплазматического актина овоцита [1] с помощью микроинъекций в овоцит специфических для этих изоформ антител позволило выявить, что  $\gamma$ -изоформа играет большую роль в инициации и/или поддержании асимметрии при первом делении мейоза (образовании первого полярного тельца). В поддержании и кортикальном закоривании веретена второго мейотического деления в течение всего периода «ожидания яйцеклеткой возможной фертилизации» участвуют обе ( $\beta$ - и  $\gamma$ -) изоформы актина. После закрепления веретена деления в субкортикальной области происходит его ротация с помощью микрофиламентов актина таким образом, что средняя зона веретена может индуцировать две билатеральные борозды, осуществляющие перетяжку цитоплазмы овоцита под полярным тельцем и его отделение от овоцита. Важное значение в сборке веретена деления при мейозе и в прикреплении микротрубочек веретена к кинетохорам хромосом имеет белок Ndc80 [6]. Окрашивание

овоцитов иммунофлуорохромами выявило, что Ndc80 связан с микротрубочками веретена как в метафазе-1, так и в метафазе-2. Попыты по введению таксола (стимулятора сборки микротрубочек) и нокодазола (органического соединения, вызывающего деполимеризацию микротрубочек) в овоцит подтвердили предположение, что данный белок играет важную роль в ориентации хромосом в метафазе мейоза и организации веретена деления при первом и втором делениях созревания.

Финальная стадия овогенеза — завершение второго деления мейоза с образованием гаплоидной яйцеклетки — связана с оплодотворением. Сигнал для окончания мейоза приходит в овоцит от спермия, который привносит в цитоплазму овоцита фосфолипазу-С $\beta$ , вызывающую всплески концентрации катионов кальция в цитоплазме овоцита и последующую активацию APC-CDH1-белкового комплекса, вызывающего деградацию циклина В и завершение мейоза.

Приведенные данные представляют лишь небольшую часть имеющейся в литературе информации. Сложнейший механизм регуляции овогенеза еще далек от окончательной расшифровки. Научную информацию еще предстоит осмыслить, систематизировать и выстроить в научную теорию регуляции овогенеза.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Brockmann C., Huarte J., Dugina V. et al. Beta and Gamma cytoplasmic actins are required for meiosis in mouse oocyte // *Biol. Reprod.* 2011. V. 123. P. 121–128.
2. Childs A. J., Cowan G., Kinnell H. L., Anderson R. A., Saunders P. T. Retinoic acid signaling and the control of meiotic entry in the human fetal gonad // *Journal List.* 2011. V. 6. № 6. P. 240–254.
3. Edson M. A., Nagaraja A. K. A., Matzuka M. M. The mammalian ovary from genesis to relevation // *Endocr. Rev.* 2009. V. 30. № 6. P. 624–712.
4. Horner K., Livera G., Hinkley M. et al. Rident oocyte express an activity adenylyl cyclase required for meiotic arrest // *Dev. Biol.* 2003. V. 258. P. 385–396.
5. Solc P., Schultz R. M., Motlik J. Prophase 1 arrest and progression to metaphase 1 in mouse oocytes: comparison of resumption of meiosis and recovery from G2-arrest in somatic cells // *Mol. Hum. Reprod.* 2010. V. 16. № 9. P. 654–664.
6. Sun S. C., Zhang D. X., Lee S. E., Xu Y. N., Kim N. H. Ndc80 regulates meiotic spindle organization, chromosome alignment, and cell cycle progression in mouse oocytes // *Nicrosc. Micrianal.* 2011. V. 17. № 3. P. 431–9.
7. Wang Q., Racowsky C., Deng M. Mechanism of the chromosome-induced polar body extrusion in mouse eggs // *Cell. Div.* 2011. V. 25. № 6. P. 17.