



Генетические и эпигенетические механизмы регуляции, хронология и динамика сперматогенеза у млекопитающих

Л.Ф. Курило, М.И. Штаут

Лаборатория генетики нарушений репродукции ФГБНУ «Медико-генетический научный центр»;
Россия, 115478, Москва, ул. Москворечье, 1

Контакты: Любовь Федоровна Курило kurilo@med-gen.ru

В обзоре обсуждены представления о механизмах генетической и эпигенетической регуляции многостадийного процесса — сперматогенеза. Генетический тип наследования заключен в коде ДНК; передача эпигенетической информации осуществляется механизмами, включающимися в онтогенезе функциями, не затрагивающими саму нуклеотидную последовательность ДНК. Эпигенетическая регуляция — комплексный процесс, во время которого компоненты разных групп эпигенетических модификаций (действие некодирующих РНК, метилирование ДНК, модификации гистонов и других соединений в клетке через их фосфорилирование, ацетилирование, убиквитинирование, сумоилирование) работают во взаимодействии. Нарушения любых компонентов процесса эпигенетической регуляции развития, как и генетической, могут быть причиной патологии сперматогенеза и/или бесплодия, развития ряда эпигенетических заболеваний.

В настоящее время у человека известно более 90 импринтированных генов и локусов, локализованных на 13 хромосомах, и описано более 10 заболеваний — синдромов геномного импринтинга: синдромы Ангельмана, Прадера—Вилли, Рассела—Сильвера, Беквита—Видемана и др. Это свидетельствует о корреляции развития таких заболеваний с неординарными ситуациями при гаметогенезе, эмбриогенезе, на иных этапах жизни организма. Цитозинное метилирование ДНК контролирует все биологические процессы: рост и развитие животных, участвует в транскрипции, репликации, репарации ДНК, клеточной дифференцировке, геномном импринтинге, инактивации X-хромосомы, транспозиции генов, канцерогенезе.

Ключевые слова: генетика, эпигенетика, сперматогенез, метилирование ДНК, модификации гистонов, хромосомы, хроматин, прохромосомы, митоз, мейоз

DOI: 10.17650/2070-9781-2015-1-31-40

Genetic and epigenetic mechanisms of regulation, chronology and dynamics of spermatogenesis of mammals

L.F. Kurilo, M.I. Shtaut

Laboratory of Genetics of Violations of Reproduction, Medical and Genetic Research Center;
1 Moskvorechiye St., Moscow, 115478, Russia

Genetic and epigenetic mechanisms of spermatogenesis — long process with many stages regulation are discussed. DNA code is the entirety of hereditary information, epigenetic mechanisms of gene regulation act without altering primary nucleotide sequences. Epigenetic regulation is a complex process, in which components of different groups of epigenetic modifications (non-coding RNAs, DNA methylation and histone modification) work together. Mistakes in any of the components of the process may cause impaired spermatogenesis and/or infertility, and may cause epigenetic diseases.

Nowadays 90 imprinted genes and loci on 13 chromosomes are revealed. More than 10 human diseases involving genomic imprinting are known (Angelman syndrome, Prader—Willi syndrome, Russell—Silver syndrome, Beckwith—Wiedemann syndrome etc.). DNA methylation is essential for normal development and is associated with a number of key processes including animal growth and development, transcription, DNA replication and reparation, cell differentiation, genomic imprinting, X-chromosome inactivation, suppression of repetitive elements and carcinogenesis.

Key words: genetics, epigenetics, spermatogenesis, DNA methylation, histone modifications, chromosomes, chromatin, prochromosomes, mitosis, meiosis

Морфогенез и функционирование органов мужской половой системы человека и других видов млекопитающих, дифференцировку мужских половых клеток (ПК) (сперматогенез) через серию стадий их развития и функционирования контролируют генетические и эпи-

генетические механизмы регуляции [1–3]. ПК обладают уникальной возможностью — передавать следующим поколениям информацию о генетической программе развития их самих и развивающегося после оплодотворения нового организма по двум направлениям:

генетическому и эпигенетическому. Генетический тип наследования заключен в коде ДНК; передача эпигенетической информации осуществляется механизмами, включающимися в онтогенезе функциями, происходящими непосредственно с ДНК (не затрагивающими саму нуклеотидную последовательность), хроматином, протеиновыми комплексами, ассоциированными с ДНК, и др. соединениями. Вышесказанное свидетельствует о целесообразности обсуждения современных представлений о механизмах генетической и эпигенетической регуляции такого ключевого для развития нового организма и длительного, многостадийного процесса, как сперматогенез.

Современные представления о механизмах эпигенетической регуляции процесса развития организма в биологии и медицине начали разрабатывать и обсуждать в конце 70-х — начале 80-х годов прошлого века [4, 5]. Термин «эпигенетика» предложил С.Н. Waddington [6] для обозначения всех событий развития (от оплодотворенной зиготы до зрелого организма), всех регуляторных процессов (формирующих конечный продукт), осуществляющих сложный план развития. R. Holliday дал более конкретное определение эпигенетики — «исследование механизмов временного и пространственного контроля генной активности в сложных организмах» [7]. Современные авторы продолжают уточнять и обсуждать определение эпигенетики.

Эпигенетика — наука о наследуемых свойствах организма, которые не связаны с изменением последовательности нуклеотидов ДНК и могут быть опосредованно закодированы в геноме [8]. Кроме того, при обсуждении механизмов этого явления стала очевидной необходимость новой терминологии, введения новых понятий.

Эпигенетическая регуляция экспрессии генов — потенциально наследуемый код, отличный от геномной последовательности нуклеотидов. Под **эпигенетическим наследованием** подразумевается способность различных состояний генетического материала (имеющих разные фенотипические отображения) быть переданными по наследству без каких-либо изменений в последовательности ДНК [9]. Под **эпигенетической изменчивостью** подразумевают наследуемые изменения генной активности. От мутаций они отличаются тем, что меняется активность, а не структура генетического материала, а от модификаций — тем, что вновь возникшее изменение генной активности наследуется в ряду поколений [5]. Впервые в мире химически идентифицированный эпигенетический сигнал был описан в СССР Б.Ф. Ванюшиным [10]. В дальнейшем оказалось, что метилирование ДНК является ведущим эпигенетическим механизмом [11]. Цитозинное метилирование ДНК контролирует все биологические процессы: рост и развитие животных [12], участвует в транскрипции, репликации, репарации ДНК, клеточной дифферен-

цировке, геномном импринтинге (ГИ), инактивации X-хромосомы и транспозиции генов. Начинает накапливаться информация об особенностях эпигенетических механизмов регуляции именно в ПК.

В ядре клетки ДНК накручена на гистоновые белки, формируя полимер — хроматин. Хроматин находится в различных формах упаковки: от фибриллы высококонденсированного хроматина (гетерохроматин) до менее конденсированной формы (эухроматин), характеризующейся активной генной экспрессией. Основная единица хроматина — нуклеосома, построенная из октамера гистона, который включает гистоны H2A, H2B, H3, H4. На специфических остатках гистонов происходят различные модификации (относящиеся к механизмам эпигенетической регуляции развития): метилирование, фосфорилирование, ацетилирование, убиквитинирование или сумоилирование [13]. Их осуществление определяет уникальную судьбу линии ПК, поскольку модификации гистонов обеспечивают контроль за функционированием генов в организме от одного поколения к следующему.

В имеющейся на сегодня литературе, посвященной эпигенетическим событиям в мужских ПК, внимание исследователей в основном сконцентрировано на уникальности изменений, касающихся ремоделирования хроматина с заменой гистонов на протамины при трансформации сперматид в сперматозоиды. Какие-либо иные изменения хроматина, гистонов и прочих компонентов генетической и эпигенетической регуляции на других стадиях развития мужских гамет практически не рассматривают. В то же время в длительной и многостадийной дифференцировке мужских ПК четко различают ряд этапов по модификации морфологии клетки, ядра, хромосом и других компонентов, а также по экспрессии определенных генов на разных стадиях сперматогенеза. Такие изменения позволяют предполагать их связь с эпигенетической регуляцией этих стадий.

Ранние предшественники ПК — примордиальные ПК (ППК) возникают и обособляются в результате получения сигнальных молекул из клеток экстраэмбриональных линий. Основной особенностью специализации ППК является репрессия в них соматической программы развития. Вопросы эпигенетической регуляции развития ПК у млекопитающих изучают на модельных объектах, чаще на мышах. Экспрессию гена *Blimp* в клетках у мышей выявляют рано (на стадии E6,25), и число таких клеток возрастает, достигая 40 на стадии E7,5. В этих 40 предшественниках ППК (пре-ППК) начинается синтез продукта гена *Stella*, позднее — продуктов генов *Nanos3*, *Sox2*. По-видимому, ген *Blimp* репрессирует генетическую программу развития соматических клеток [14]. Имеется несогласованность относительно терминологии: пре-ППК, ППК, гоноциты, гонии. В данном обзоре мы не будем обсуждать эту тему.

ГИ – эпигенетический процесс, дифференциально маркирующий в гаметогенезе определенные материнские и/или отцовские гены (в геноме организма). Это обуславливает моноаллельную экспрессию импринтированного гена в организме (гена от ПК отца или матери) на определенных этапах онтогенеза. Многие импринтированные гены вовлечены в регуляцию развития эмбриона или плаценты. Одним из механизмов импринтирования (репрессии) аллелей является метилирование ДНК по цитозинным основаниям в CpG-динуклеотидных регуляторных элементах гена, приводящее (как правило, но не всегда) к подавлению аллеля. Данные гены регулируются через последовательности ДНК, называемые регионами контроля импринтинга, метилирование которых стирается в ППК развивающегося эмбриона при заселении гаметами половых валиков (зачатков гонад). Образцы метилирования цитозина поддерживаются при делении клеток с помощью ДНК-метилтрансферазы (DNMT1), в то время как установление метилирования *de novo* контролируется белками DNMT3a и DNMT3b [15]. Но хронология метилирования тех или иных генов в мужских или женских гаметах и длительность их репрессии в гаметах и в развивающемся организме у человека еще практически не изучены. В настоящее время у человека известно более 90 импринтированных генов и локусов [16], локализованных на 13 хромосомах, и описано более 10 заболеваний – синдромов ГИ: синдромы Ангельмана, Прадера–Вилли, Рассела–Сильвера, Беквита–Видемана и др. Это свидетельствует о наличии корреляции развития таких синдромов с неординарными ситуациями при гаметогенезе, эмбриогенезе, развитии организма в целом, связанными с нарушением эпигенетических механизмов. Накапливаются сообщения о повышении частоты рождения детей, зачатых с помощью репродуктивных технологий, с болезнями ГИ по сравнению с таковой в популяции рожденных при естественном зачатии. Развитие таких заболеваний у данной категории детей может быть обусловлено и состоянием репродуктивного здоровья их родителей.

Сперматогенез (развитие мужских ПК) у человека и млекопитающих животных протекает по универсальной схеме (рисунок [17]): гоноциты – ППК – формируются вне гонад и мигрируют из области эпибласта в энтодерму желточного мешка и затем в зачатки гонад (половые валики). Первая волна деметилирования ДНК у мышей проходит во время миграции ППК к гонадным валикам [18]. Реметилирование ДНК мужских и женских ПК происходит в разные временные интервалы [11].

Дифференцировка половых клеток. Эпигенетические аспекты

Для того чтобы в ПК и окружающих их соматических клетках произошли события, приводящие к фор-

мированию пола, начинают экспрессию соответствующие факторы транскрипции и с гоносом, и с аутосом [19, 20]. При этом ключевые для мужского пола гены Y-хромосомы человека выступают в роли доминантных: экспрессия гена *SRY* активирует экспрессию аутосомного гена *SOX9* [21], что инициирует развитие мужских половых признаков [22], запускает механизмы через включение тестис-специфического направления. Механизмы эпигенетической регуляции данных процессов исследователи изучают на модельных объектах. Такие данные получены для гена *SRY* мышей [23], они раскрывают ключевую роль деметилирования гистонов млекопитающих при дифференцировке пола. Развитие экспрессии генов происходит через взаимодействие факторов транскрипции и эпигенетического статуса участка хромосомы, на котором расположены эти гены, в том числе через модификации гистонов.

У человека и некоторых видов млекопитающих животных (изученных по данной теме) ППК формируются при гастрюляции, из клеток проксимального участка эпибласта [17]. Значимость проблемы происхождения ППК заключается в том, что это единственный тип клеток (у многоклеточных организмов), через которые сохраняется и передается последующим поколениям генетическая и эпигенетическая информация, обеспечивающая их развитие и функционирование [23]. Определены маркеры ППК на разных этапах их дифференцировки, при миграции ППК к половым валикам с помощью хемокинов. Например, по наличию в ПК тканенеспецифичной щелочной фосфатазы и высокого уровня ее активности идентифицируют ППК у эмбрионов разных видов [24–26]. У эмбриона человека миграцию ППК к половым валикам отмечают с 25-го дня развития пассивно по кровеносным сосудам и активно с помощью амебоидного перемещения [27, 28]. При заселении половых валиков в ППК начинают экспрессироваться новые гены, специфичные для них, включая высококонсервативный гомолог *vasa* (*Mvh*) мыши, *Gcn1*, *Gcl*, *Tnap*, *Ssea 1*. У мыши это происходит на 10-й и 11-й дни после оплодотворения. Ген-регулятор *Scp3* экспрессируется в оогенезе, а в сперматогенезе (в формирующихся яичках плодов мужского пола) этот ген вовлекается в регуляцию блока митоза (в периоде G0/G1) в просперматогониях [24, 27, 28].

Как выявлено на мышах, начальные моменты развития пре-ППК из полипотентных клеток проксимального участка эпибласта эмбрионов индуцированы и контролируются экстраклеточными сигнальными молекулами – белками BMP4, BMP8b и BMP2 [21, 26]. Выявлено, что чувствительность ППК к действию сигнальных молекул BMP длится короткое время, что может быть объяснено коротким периодом действия транскрипта гена *Wnt3* [29]. Подобный эффект сигнальных молекул при дифференцировке пре-ППК у человека и обезьян оказывают факторы BMP [21].

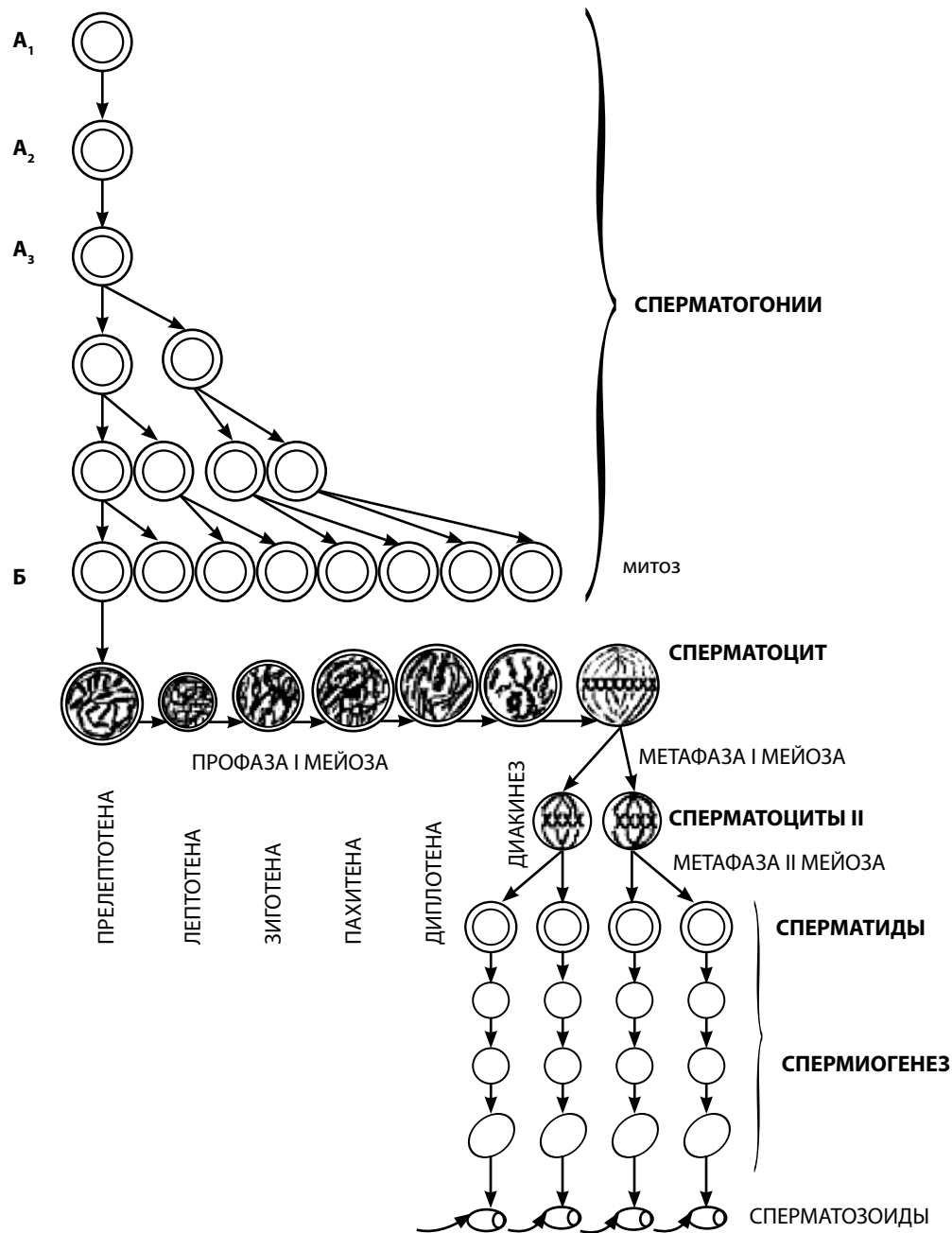


Схема сперматогенеза человека и млекопитающих [17]

Продукт гена мыши *Blimp1* запускает дифференцировку пре-ППК среди иных типов клеток проксимального участка эпибласта. Механизм действия белка *Blimp1* проявляется в подавлении активности продуктов, регулируемых гомеобоксными генами семейства *Hox* [29, 30] и генами, продукты которых участвуют в регуляции клеточного цикла и метилирования ДНК [31]. Полагают, что для дальнейшей дифференцировки ППК необходима активация гена *Fragilis*, контролирующего синтез интерферон-зависимого трансмембранного белка *Fragilis*, участвующего в формиро-

вании клеточных контактов при миграции ППК [32] и регуляции контроля клеточного цикла в группе ППК. Подчеркивают многофункциональность одного из активных маркеров ППК – тирозинкиназного рецептора с-KIT, участвующего в направлении миграции ППК.

Большинство генов в хроматине спермиев высококонденсированы с помощью протаминов, в то время как гены, потенциально необходимые для начальных стадий развития нового организма, ассоциированы с гистонами, представляющими форму эпигенетического маркирования. Но мало внимания уделяется другим

белкам (кроме гистонов и протаминов), ассоциированным с хроматином спермиев и также выполняющим эпигенетическую роль. **Транзиторные белки** подготавливают хроматин для ассоциации с протаминами, влияя на конденсацию ДНК. **Протамины** имеют низкое содержание лизина, и более чем 50 % их остатков составляет аргинин. Возможно, это отражает эволюционное изменение протаминов из H1-гистонов: протамины приобрели высокое содержание аргинина, которое, в свою очередь, изменило свойства конденсации хроматина. Мужские ПК имеют необычно большое число вариантов гистонов. Существует 2 типа вариантов: подобные тестис-специфическим гистонам P4, с минорным или нет аминокислотным отличием от соматического H4; и варианты с различными аминокислотными последовательностями и структурой, такой как H2A. **H3-варианты гистонов** — специфические для ПК гистоны — появляются в сперматогониях, позже — в сперматидях, но большинство из них синтезируется и включается в хроматин во время мейоза. В профазе I гистон H3 широко замещается H3.3A и H3.3B, которые, несомненно, ассоциируют с эухроматином. H3.3 относительно обогащен в модификациях, ассоциированных с транскрипционной активностью, и является недостаточным по диметил-Lys9, модификации ассоциированы с молчанием некоторых генов и формированием гетерохроматина. Так как фосфорилирование H3 в Ser10 соотносят с конденсацией хромосом в митозе, это позволяет предполагать роль фосфорилированных вариантов H3 в прохождении мейоза. TH2B, тестис-специфический вариант H2B, отличается добавлением трех потенциально фосфорилированных участков (Ser12, Thr23, Thr34) и перемещением двух других (Ser5 и Ser6), что приводит к различным «картам фосфорилирования» в N-терминальных хвостах. Инсерция мест специфичных фосфоакцепторов в TH2B генерирует комбинаторную ассоциацию остатков лизина, серина и треонина, которые могут сообщать уникальные образцы ацетилирования и/или метилирования [33].

Сперматогенез у млекопитающих

ПК в составе сперматогенного эпителия половозрелых млекопитающих включены в процесс сперматогенеза, который представляет собой серию цитологических преобразований, приводящих к формированию из относительно малодифференцированного диплоидного сперматогония высокоспециализированной гаплоидной клетки — сперматозоида, все органеллы которого видоизменены таким образом, чтобы обеспечить его перемещение, нахождение, узнавание и оплодотворение яйцеклетки [34]. Сперматогенез у крыс, так же как у других видов млекопитающих животных и человека, проходит в 3 этапа: **сначала в ходе сперматоцитогенеза** происходит пролиферация ПК, формируется пул

сперматогониев; затем они трансформируются в сперматоциты I, вступающие в I деление мейоза, после чего становятся сперматоцитами II и завершают II деление мейоза с формированием из одного сперматоцита I четырех сперматид; далее следует спермиогенез, заканчивающийся формированием сперматозоидов. Сперматогенез (см. рисунок) начинается с деления сперматогониев типа A₁, предшественниками которых являются стволовые клетки — сперматогонии типа A₀, характеризующиеся наиболее продолжительным клеточным циклом и устойчивостью к действию повреждающих факторов. В результате ряда последовательных делений наблюдается смена сперматогониев типа A₁ сперматогониями типов A₂, A₃, A₄, промежуточного типа и типа B. Период сперматогонииального размножения завершается делением сперматогониев типа B. В результате образуется новый тип клеток — покоящиеся или прелептотенные сперматоциты, в которых происходит последний в ходе сперматогенеза синтез ДНК. Затем ПК вступают в следующую фазу дифференцировки — мейоз.

С помощью количественного метода мы провели анализ хронологии и динамики дифференцировки мужских ПК человека в развивающемся яичке на всех последовательных сроках внутриутробного периода развития (таблица) [35]. Весь материал был подразделен на 7 возрастных групп. Число проспериоматогониев возрастает в первые 4–5 недель после рождения [36]. Определенное число ПК у детей после рождения вступает в дегенерацию, что отражает естественную селекцию гамет. В яичках формирование пула ПК и вступление части из них в мейоз, формирование гематотестикулярного барьера происходит в период полового созревания [34]. Длительность сперматогенеза человека — $74 \pm 4-5$ дней. Детальное исследование возрастных характеристик структур яичка у человека было выполнено А.Ф. Астраханцевым [37].

В яичках эмбрионов 6–7 недель развития, сразу после половой дифференцировки гонад, половые тяжи составлены из 2–3 рядов недифференцированных клеток Сертоли. Популяция ПК представлена проспериоматогониями, составляющими $3,7 \pm 0,5$ % от общего числа подсчитанных половых и соматических клеток половых тяжей яичек. Они крупнее соматических клеток, имеют округлое центрально локализованное ядро, заполненное тонкой сетью хроматина и 1–2 ядрышками. Около 8,4 % проспериоматогониев делятся митозом, из них $26,2 \pm 11,3$ % отнесены к патологическим формам. Около $2,5 \pm 0,8$ % ПК по степени конденсации хромосом в компактные глыбки (прохромосомы [38]) были отнесены к гаметам на этапе прелептотенных преобразований хроматина [39]. В их ядрах отчетливо прослеживаются хроматиновые глыбки неправильной формы, соединенные между собой тонкими волокнами, присутствие которых является одним из призна-

Количественные характеристики состава ПК в яичках эмбрионов и плодов человека мужского пола [35]

Возраст эмбрионов, недели	Число исследованных эмбрионов	Доля ПК от общего числа клеток семенных тяжей (канальцев), %	Доля от общего числа подсчитанных ПК, %			Доля патологических митозов от общего числа митозов ПК, %	Диаметр ядра ПК, мкм
			прелептенная конденсация хромосом	дегенерация ПК	митозы ПК		
6–7	11	3,7 ± 0,4 ^a	2,5 ± 0,8	3,3 ± 1,5	8,4 ± 2,2 ^f	26,0 ± 11,3	8,1 ± 0,1
7,5–9	7	7,3 ± 1,2 ^b	4,3 ± 1,7	5,7 ± 1,6	1,6 ± 0,6 ^g	20,6 ± 4,0	8,3 ± 0,1
10–11	4	12,7 ± 1,2 ^c	14,2 ± 6,0	4,9 ± 2,5	0,3 ± 0,3	25,0	8,2 ± 0,2
14–16	4	16,4 ± 1,0 ^d	5,0 ± 1,5	5,8 ± 3,3	0,4 ± 0,3	0	8,0 ± 0,1
18–20	3	14,1 ± 1,0	5,5 ± 2,0	5,1 ± 1,0	0,2 ± 0,1	0	8,2 ± 0,2
21–24	5	12,3 ± 1,2 ^e	2,6 ± 0,4	6,7 ± 2,1	0,05 ± 0,05	0	8,3 ± 0,1
32	1	13,4	3,0	2,6	0	0	8,9 ± 0,1

Примечание. Различия статистически достоверны ($p < 0,05$) между *a* и *b*, *b* и *c*, *c* и *d*, *d* и *e*, *f* и *g*.

ков, четко отличающих этап прелептенной конденсации (спирализации) хромосом от метафазных митотических хромосом. Число ПК с признаками дегенерации незначительно (см. таблицу). У эмбрионов-плодов 7,5–9 недель развития число гамет увеличивается вдвое. В развивающихся яичках 10–11-недельных плодов продолжается развитие половых тяжей и возрастает число просперматогониев в них; количество гамет с формированием прохромосом в ядрах составляет максимальное относительно этого показателя на всех сроках внутриутробного периода развития. Уровень митотической активности просперматогониев снижается. В период 14–16 недель внутриутробного развития возрастает число гамет, достигая своего максимального значения. Преобладающее количество просперматогониев располагается в семенных канальцах при базально. На этих и последующих сроках развития плодов человека митотическая активность ПК незначительна. Количество гамет с глыбками хроматина в ядре несколько снижается и достигает 2,6–3,0 % у плодов 24 и 32 недель внутриутробного развития.

Популяция мужских ПК **начинает формироваться в плодный период**, но регулярное, непрерывное ее пополнение происходит при наступлении полового созревания. Митозы в мужских ПК возобновляются после рождения, и вступление гамет в мейоз начинается с периода полового созревания. Цикл развития от сперматогония до сперматозоида мужские гаметы **проходят в половозрелом организме**. Остается открытым вопрос о биологическом смысле столь растянутого развития мужских ПК при столь раннем его начале.

Мейоз, составляющий центральное событие в сперматогенезе, состоит из 2 последовательных делений созревания. На стадии **прелептотены** (выделяется цитологами по упаковке хроматина в виде так называемых прохромосом) эти структуры деконденсируются

и осуществляется последний синтез ДНК. Этот синтез завершает премейотическую интерфазу [40]. Э. Вильсон [38], рассматривая схему мейоза, отметил формирование структур прохромосом для ооцитов. В ядре мужских ПК выделяют хроматиновые глыбки, связанные между собой тонкими волокнами, их присутствие является одним из признаков, отличающих этап прелептенной конденсации хромосом от метафазных митотических хромосом [35]. Прелептенная конденсация хромосом начинается с появления тонких нерегулярных волокон, собирающихся вокруг хромоцентров, которые, как предполагается, построены из центромерного гетерохроматина. На этапе прогрессирующей хромосомной конденсации ядро **содержит такие компактные массы по числу хромосом для вида**. Наблюдаемое нами наличие гамет с формированием прохромосом в их ядрах, без признаков дегенерации, полностью подобных изученным нами (по хронологии и динамике) в ооцитах эмбрионов и плодов всех сроков внутриутробного развития человека и коровы, свидетельствует о реальности формирования клеток этой стадии и в сперматогенезе. О функции гамет на стадии конденсации хромосом и затем их деконденсации идут дискуссии, поскольку ряд исследований был посвящен анализу их динамики в оогенезе. Было отмечено, что они не могут быть отнесены к дегенерирующим гаметам. Более того, доказано, что в ооцитах на стадии прелептенной деконденсации прохромосом протекает синтез ДНК, последний синтез перед делениями мейоза. Эти данные позволяют поставить вопрос о том, какова функция такой конденсации хроматина перед развитием в гамете конъюгации гомологичных родительских хромосом в зиготене и обмена генами между ними в пахитене профазы I мейоза, т. е. перед процессами рекомбинации родительских генов и далее – двух сложных делений мейоза, в результате которых обра-

зуются гаплоидные гаметы, обеспечивающие оплодотворение и формирование диплоидного эмбриона. Одно из наших предположений заключается в том, что такое ремоделирование хромосом в ПК перед важными мейотическими событиями обеспечивает гаметам возможность прохождения процессов, уникальных для ПК: конъюгации и кроссинговера, либо способность (при эпигенетической регуляции) пройти дважды деления мейоза. Решение этих важных в биологии развития вопросов ждет своих исследователей.

Постепенно полная деконденсация хроматина приводит к формированию нитевидных хромосом, характерных для стадии лептотены. В яичках половозрелых мужчин завершение деконденсации прелептотенных глыбок хромосом — разворачивание прохромосом [35] — означает вступление гоноцита в стадию лептотены.

Сперматоциты I проходят стадию **профазы I** мейоза. Стадия профазы I мейоза — **лептотена** — характеризуется наличием хромосом в виде тонких нитей и появлением хромомер. На стадии поздней лептотены каждая хромосома, состоящая из двух хромомер, связана со специальной структурой — тяжем белковой природы, который позднее, в **зиготене**, примет участие в образовании синаптонемного комплекса. Стадия зиготены характеризуется началом конъюгации гомологичных хромосом. На этой стадии образуются так называемые хромосомные биваленты, представляющие собой парное соединение гомологичных хромосом. Для образования стабильных связей, необходимых для закрепления хромосом одна вдоль другой, в зиготене начинает формироваться синаптонемный комплекс, существующий в течение следующих стадий — **пахитены** и ранней **диплотены**. На стадии пахитены происходит второе чрезвычайно важное событие мейоза — кроссинговер, взаимный обмен генами (идентичными участками между гомологичными хромосомами), приводящий к генетической рекомбинации. На следующей стадии профазы I мейоза — диплотене гомологи отталкиваются друг от друга, но при этом пары сестринских хроматид каждой гомологичной хромосомы остаются соединенными между собой. Стадия **диакинеза** является переходной к собственно делению клетки и характеризуется укорочением бивалентов. Затем происходят метафаза, анафаза и телофаза первого деления мейоза; во время анафазы I начинается важнейшее событие — расхождение хромосом к противоположным полюсам. Но расходятся, в отличие от митоза, не сестринские хроматиды, а гомологичные хромосомы, состоящие каждая из двух сестринских хроматид. Вслед за телофазой I деления (с формированием сперматоцитов II) наступает второе эквационное деление мейоза, по морфологии сходное с митотическим делением соматических клеток.

Вследствие этих двух делений созревания из одного сперматоцита I формируются четыре сперматиды,

претерпевающие затем период мужского гаметогенеза — спермиогенеза [41, 42], во время которого гаплоидные клетки развиваются в сперматозоиды. Сперматозоиды млекопитающих относятся к жгутиковому типу. Зрелая мужская ПК большинства видов млекопитающих включает три отдела: головку (состоящую из акросомного аппарата и ядра), соединительный отдел (шейку), где расположены дистальная и проксимальная центриоли, и собственно жгутик.

В процессе **спермиогенеза** можно выделить следующие основные события:

1) изменение формы и объема ядра, конденсация хроматина, коррелирующая с его метаболической инертностью. Большую часть головки зрелого сперматозоида составляет ядро с высокой степенью упаковки хроматина, обеспечиваемой через замещение нуклеогистонов на нуклеопротамины. Особая конденсация хроматина в сперматиде необходима для защиты генетического материала;

2) образование акросомы — органеллы, обеспечивающей лизис яйцевых оболочек при оплодотворении;

3) формирование аппарата движения — жгутика, играющего важную роль в процессе оплодотворения;

4) сбрасывание большей части цитоплазмы вместе с цитоплазматическими органеллами и индивидуализация сперматозоидов, т. е. освобождение их от цитоплазматических мостиков.

Сперматогенные клетки позвоночных развиваются в окружении соматических (поддерживающих) клеток Сертоли, лежащих на базальной мембране стенки извитых семенных канальцев.

Специализированные соединения между клетками Сертоли, располагающиеся над сперматогониями и сперматоцитами на стадии прелептотены, рассматриваются как наиболее эффективный компонент гематотестикулярного барьера [34]. Однако этим далеко не ограничивается функциональное значение поддерживающих клеток. Отсутствие митозов в клетках Сертоли определило, что число их на срез извитого семенного канальца характеризуется строгим постоянством, и они играют важную роль в установлении внутренней структуры канальцев.

В гормональном контроле сперматогенеза ключевую роль играют два основных гонадотропных гормона, секретируемые передней долей гипофиза, — лютеинизирующий гормон (ЛГ) и фолликулостимулирующий гормон (ФСГ). Органами-мишенями для гонадотропных гормонов являются клетки Сертоли и клетки Лейдига. Основным источником тестостерона в яичках являются клетки Лейдига, располагающиеся в интерстициальной соединительной ткани [34]. Гипоталамус — главный центр регуляции функционирования мужской репродуктивной системы. Получая информацию от центральной нервной системы и яичек, гипоталамус регулирует образование и секрецию гона-

дотропин-рилизинг-гормона в пульсирующем режиме, что является необходимым звеном стимуляции синтеза и секреции ЛГ и ФСГ. ЛГ и ФСГ образуются также в яичках. Тестостерон, продукт внутренней секреции яичка (клетками Лейдига), является главным ингибитором секреции ЛГ гипофиза у мужчин.

Контроль сперматогенеза некодирующими РНК

Контроль репродуктивной функции исследован для протеинкодирующих последовательностей (генетический контроль), состава и структуры хроматина и для некодирующих регионов, продуцирующих молекулы РНК различной длины (эпигенетические факторы) [43]. Существующие подходы к классификации этой разнородной группы основаны на длине изучаемых молекул в нуклеотидах и функциях этих РНК в клетках [44]. Рiwi-взаимодействующие РНК (рiРНК; имеют длину молекул 24–30 нуклеотидов) в яичках млекопитающих формируют комплекс с белками Рiwi. Эти РНК формируются в незрелой иммунной системе, направляя транспозоны к ДНК-метилированию во время сперматогенеза. Различные классы рiРНК экспрессируются в эмбриональных ПК. Действие других некодирующих РНК на успешное протекание мейоза показано для процессов в профазе I мейоза [45]. Предпахитенные рiРНК развиваются главным образом из ретроинтергенных

и необходимы для их ингибирования. рiРНК находят в митотически делящихся ПК, таких как сперматогонии.

Эпигенетические явления включают в себя **трансгенерационные эффекты** индуцированного действия (токсинов и других факторов) на ПК и следующие поколения [46, 47]. Так, у крыс эндокринный фон влияет на мужскую фертильность через поколения [48]. Механизм такого наследования описывают в том числе через действие некодирующих РНК [46], которое вызывает наследственные колебания генной активности, происходящие без изменений в последовательности ДНК при передаче сценария регуляции работы генов дочерним организмам.

С накоплением информации о результатах исследования эпигенетических событий в гаметогенезе становится очевидным, что эпигенетические механизмы регулируют многие ключевые функции, обеспечивающие стабильность генома, наследуемость изменений в генной экспрессии. Эпигенетическая «пластичность» хромосом при прохождении митоза и мейоза необходима для компенсации происходящих изменений нуклеотидной последовательности и хромосомных перестроек, которые связаны с видообразованием. Для некоторых этапов сперматогенеза, эмбриогенеза описаны события с влиянием или еще только предполагаемым влиянием эпигенетических факторов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баранов В.С., Кузнецова Т.В., Пендина А.А. и др. Эпигенетические механизмы нормального и патологического развития человека. В кн.: Эпигенетика. Отв. ред. С.М. Закиян, В.В. Власов, Е.В. Деметьева. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2012. С. 225–66. [Baranov V.S., Kuznetsova T.V., Pendina A.A. et al. Epigenetic mechanisms of normal and abnormal human development. In: Epigenetics. Eds. S.M. Zakiyan, V.V. Vlasov, E.V. Dementiyeva. Novosibirsk: Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 2012. Pp. 225–66. (In Russ.)].
2. Колесникова Т.Д. Механизмы эпигенетического наследования. В кн.: Эпигенетика. Отв. ред. С.М. Закиян, В.В. Власов, Е.В. Деметьева. Новосибирск: Изд-во. СО РАН, 2012. С. 89–106. [Kolesnikova T.D. Mechanisms of epigenetic study. In: Epigenetics. Eds. S. M. Zakiyan, V.V. Vlasov, E.V. Dementiyeva. Novosibirsk: Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 2012. Pp. 89–106. (In Russ.)].
3. Курило Л.Ф. Закономерности овариогенеза и оогенеза млекопитающих. Deutschland: Lap Lambert Academic Publishing, 2012. 282 с. [Kurilo L.F. Regularities of ovariogenesis and oogenesis of mammals. Deutschland: Lap Lambert Academic Publishing, 2012. 282 p. (In Russ.)].
4. Ванюшин Б.Ф. Метилирование ДНК и эпигенетика. Генетика 2006;42(9):1–14. [Vanyushin B.F. DNA methylation and epigenetics. Genetika = Genetics 2006;42(9):1–14. (In Russ.)].
5. Голубовский М.Д. Организация генотипа и формы наследственной изменчивости эукариот. Молекулярные механизмы генетических процессов: молекулярная генетика, эволюция и молекулярно-генетические основы селекции. М.: Наука, 1985. С. 146–62. [Golubovskiy M.D. Genotype Organization and forms of eukaryotes genetic variation. Molecular mechanisms of genetic processes: molecular genetics, evolution, and molecular genetic basis of selection. Moscow: Nauka, 1985. Pp. 146–62. (In Russ.)].
6. Waddington C.H. Canalization of development and the inheritance of acquired characters. Nature 1942;150:563–5.
7. Holliday R. Epigenetics: a historical overview. Epigenetics 2006;(1):76–80.
8. Ванюшин Б.Ф. Эпигенетика сегодня и завтра. Вавиловский журнал генетики и селекции 2013;17(4/2):805–32. [Vanyushin B.F. Epigenetics today and tomorrow. Vavilovskiy zhurnal genetiki i selektsii = Vavilov's Journal of Genetics and Selection 2013;17(4/2):805–32. (In Russ.)].
9. Льюин Б. Гены. М.: Бином, 2012. 896 с. [Lewin B. Genes. Moscow: Binom, 2012. 896 p. (In Russ.)].
10. Vanyushin B.F., Tkacheva S.G., Belozersky A.N. Rare bases in animal DNA. Nature 1970;225(5236):948–9.
11. Ефимова О.А., Пендина А.А., Тихонов А.В. и др. Метилирование ДНК – основной механизм репрограммирования и регуляции генома человека. Медицинская генетика 2012;11(4):10–8. [Efimova O.A., Pendina A.A., Tikhonov A.V. et al. DNA methylation as the basic mechanism of reprogramming and regulation of the human genome. Meditsinskaya genetika = Medical Genetics 2012;11(4):10–8. (In Russ.)].
12. Holliday R., Pugh J.E. DNA modification mechanisms and gene activity during development. Science 1975;187(4173):226–32.

13. Козаридес Т., Бергер С.Л. Модификации хроматина и механизм их действия. В кн.: Эпигенетика. Под ред. С.Д. Элписа, Т. Дженювейна, Д. Рейнберга. М.: Техносфера, 2010. С. 191–209. [Kozarides T., Berger S.L. Chromatin modifications and their mechanism of action. In: Epigenetics. Eds. S. D. Ellis, T. Jenewayne, D. Reinberg. Moscow: Technosphere, 2010. Pp. 191–209. (In Russ.)].
14. Азим Сурани М., Рейк В. Зародышевая линия и плюрипотентные стволовые клетки. В кн.: Эпигенетика. Под ред. С.Д. Элписа, Т. Дженювейна, Д. Рейнберга. М.: Техносфера, 2010. С. 368–87. [Surani M.A., Rake V. Germ line and pluripotent stem cells. In: Epigenetics. Eds. S. D. Ellis, T. Jenewayne, D. Reinberg. Moscow: Technosphere, 2010. Pp. 368–87. (In Russ.)].
15. Fuente R., Bernad A., Garcia-Castro J. et al. Retraction: spontaneous human adult stem cell transformation. *Cancer Res* 2010;70(16):6682–3.
16. Amor D.J., Halliday J. A review of known imprinting syndromes and their association with assisted reproduction technologies. *Human Reprod* 2008;23(12):2826–34.
17. Курило Л.Ф. Возможности цитогенетического исследования мейоза при мужском бесплодии. *Цитология и генетика* 1989;23(2):63–70. [Kurilo L.F. Possibilities of cytogenetic study of meiosis with male infertility. *Tsitologiya i genetika = Cytology and Genetics* 1989;23(2):63–70. (In Russ.)].
18. Yamazaki Y., Mann M.R., Lee S.S. et al. Reprogramming of primordial germ cells begins before migration into the genital ridge, making these cells inadequate donors for reproductive cloning. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100(21):12207–12.
19. Черных В.Б., Курило Л.Ф. Генетический контроль дифференцировки пола у человека. *Генетика* 2001;37(10):1317–29. [Chernykh V.B., Kurilo L.F. Genetical control of sex differentiation of humans. *Genetika = Genetics* 2001;37(10):1317–29. (In Russ.)].
20. Черных В.Б., Курило Л.Ф. Генетический контроль дифференцировки пола у человека. *Генетика* 2001;37(11):1475–85. [Chernykh V.B., Kurilo L.F. Genetical control of sex differentiation of humans. *Genetika = Genetics* 2001;37(11):1475–85. (In Russ.)].
21. Кожухарь В.Г. SRY и SOX9 – главные факторы генетической детерминации пола у млекопитающих. *Цитология* 2012;(5):390–404. [Kozhukhar V.G. SRY and SOX9 as the main factors of genetic sex determination of mammals. *Tsitologiya = Cytology* 2012;(5):390–404. (In Russ.)].
22. Koopman P., Gubbay J., Vivian N. et al. Male development of chromosomally female mice transgenic for Sry. *Nature* 1991;351(6322):117–21.
23. Kuroki S., Matoba S., Akiyoshi M. et al. Epigenetic regulation of mouse sex determination by the histone demethylase Jmjd1a. *Science* 2013;341(6150):1106–9.
24. McLaren A. Mammalian germ cells: birth, sex, and immortality. *Cell Struct Funct* 2001;26(3):119–22.
25. Семенова-Тян-Шанская А.Г. Происхождение, дифференцировка и миграция гоноцитов у ранних зародышей человека. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Л., 1973. 20 с. [Semenova-Tyan-Shanskaya A.G. Origin, differentiation, and migration of gonocytes of early human embryos. Author's abstract of thesis ... of candidate of biological sciences. Leningrad, 1973. 20 p. (In Russ.)].
26. Edson M.A., Nagaraja A.K., Matzuk M.M. The mammalian ovary from genesis to revelation. *Endocr Rev* 2009;30(6):624–712.
27. McLaren A. Studies on mouse germ cells inside and outside the gonad. *J Exp Zool* 1983;228(2):167–71.
28. McLaren A. Mammalian development: methods and success of nuclear transplantation in mammals. *Nature* 1984;309(5970):671–2.
29. Ohinata Y., Ohta H., Shigeta M. et al. A signaling principle for the specification of the germ cell lineage in mice. *Cell* 2009;137(3):571–84.
30. McLaren A., Lawson K.A. How is the mouse germ-cell lineage established? *Differentiation* 2005;73(9–10):435–7.
31. Nakamura A., Seydoux G. Less is more: specification of the germline by transcriptional repression. *Development* 2008;135(23):3817–27.
32. Tanaka S., Yamagishi R., Tsutsui M. et al. Tissue- and dose-dependent alteration of stress-inducible proteins by beta2-adrenoceptor agonist, salbutamol, in rats. *J Toxicol Sci* 2005;30(4):305–14.
33. Эпигенетика. Под ред. С.Д. Элписа, Т. Дженювейна, Д. Рейнберга. М.: Техносфера, 2010. 496 с. [Epigenetics. Eds. S. D. Ellis, T. Jenewayne, D. Reinberg. Moscow: Technosphere, 2010. 496 p. (In Russ.)].
34. Райцина С.С. Сперматогенез и структурные основы его регуляции. М.: Наука, 1985. 206 с. [Raitsina S.S. Spermatogenesis and structural bases of its regulation. Moscow: Science, 1985. 206 p. (In Russ.)].
35. Хилькевич Л.В., Курило Л.Ф. Кинетика популяции мужских половых клеток человека в антенатальном периоде онтогенеза. *Онтогенез* 1992;23(5):506–10. [Khilkevich L.V., Kurilo L.F. Kinetics of Population of male germ cells of humans during the antenatal ontogenesis period. *Ontogenez = Ontogenesis* 1992;23(5):506–10. (In Russ.)].
36. Mendez J.A., Emery J.L. The seminiferous tubules of the testis before, around and after birth. *J Anat* 1979;128(3):601–7.
37. Астраханцев А.Ф. Морфофункциональные изменения тестикул при гемодинамических нарушениях. *Урология и нефрология* 1996;(5):50–1. [Astrakhtantsev A.F. Morphological changes of testicles with hemodynamic disorders. *Urologiya i nefrologiya = Urology and Nephrology* 1996;(5):50–1. (In Russ.)].
38. Вильсон Э. Клетка и ее роль в развитии и наследственности. М.–Л.: ГИБМЛ, 1936. Т. 1. С. 211–2. [Wilson E. Cell and its role in development and heredity. Moscow-Leningrad: GIBML, 1936. Vol. 1. Pp. 211–2. (In Russ.)].
39. Курило Л.Ф. Морфофункциональные характеристики овогенеза млекопитающих и человека. Дис. ... д-ра биол. наук. М., 1985. 470 с. [Kurilo L.F. Morphological and functional characteristics of oogenesis of mammals and humans. Thesis ... of doctor of biological sciences. Moscow, 1985. 470 p. (In Russ.)].
40. Богданов Ю.Ф., Коломиец О.Л. Синаптономный комплекс – индикатор динамики мейоза и изменчивости хромосом. М.: КМК Scientific Press Ltd., 2007. 358 с. [Bogdanov Yu.F., Kolomiyets O.L. Synaptonemal complex as an indicator of dynamics of meiosis and variability of chromosomes. Moscow: KMK Scientific Press Ltd., 2007. 358 p. (In Russ.)].
41. Курило Л.Ф., Макарова Н.П., Шилейко Л.В. Система оценки состояния сперматогенеза человека и млекопитающих (клинические лекции). *Андрология и генитальная хирургия* 2005;(4):8–17. [Kurilo L.F., Makarova N.P., Shileiko L.V. System of assessment of the state of spermatogenesis of human and mammals (clinical lectures). *Andrologiya i genital'naya khirurgiya = Andrology and Genital Surgery* 2005; (4):8–17. (In Russ.)].
42. Бойко Н.И., Борисенко Ю.А., Быстров А.А. и др. Сексология и андрология. Под ред. А.Ф. Возианова, И.И. Горпинченко. К.: Абрис, 1997. 880 с. [Boiko N.I., Borisenko Yu.A., Bystrov A.A. et al. Sexology and andrology. Eds. A.F. Vozianov, I.I. Gorpichenko. Kiev: Abris, 1997. 880 p. (In Russ.)].
43. Aravin A.A., Hannon G.J. Small RNA silencing pathways in germ and stem cells. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 2008;73:283–90.
44. Mukherjee A., Koli S., Reddy K.V. Regulatory non-coding transcripts in spermatogenesis: shedding light on “dark matter”. *Andrology* 2014;2(3):360–9.
45. Zhang R., Wang Y.Q., Su B. Molecular evolution of a primate-specific microRNA family. *Mol Biol Evol* 2008;25(7):1493–502.



46. Liebers R., Rassoulzadegan M., Lyko F. Epigenetic regulation by heritable RNA. PLoS Genet 2014;10(4):e1004296.
47. Вершинин А.В. Эпигенетика специфических районов хромосом.

Генетика 2006;42(9):1200–14. [Vershinin A.V. Epigenetics of specific areas of chromosomes. Genetika = Genetics 2006;42(9):1200–14. (In Russ.)].

48. Anway M.D., Cupp A.S., Uzumcu M., Skinner M.K. Epigenetic transgenerational actions of endocrine disruptors and male fertility. Science 2005;308(5727):1466–9.