

Аспекты морфогенетических преобразований хроматина на прелептотенных стадиях сперматогенеза у человека

М. И. Штаут

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

Контакты: Мария Имреевна Штаут shtaut@yandex.ru

Формирование пула мужских половых клеток (ПК) обеспечивается пролиферацией ПК (митозом) во время их миграции и в гонадах эмбриона и плода человека, а также апоптозом (генетически запрограммированной гибелью ПК). На разных сроках антенатального периода в семенных канальцах развивается популяция ПК, часть которой составляют гаметы на стадии прелептотены профазы I мейоза. У новорожденных и детей грудного возраста ПК на стадии прелептотены встречаются в различном соотношении. Большая часть мужских ПК вступает в мейоз постнатально, в период полового созревания. Уникальная конденсация хроматина ПК на прелептотенных стадиях (прохромосомы) может быть вызвана недостаточностью сигнальных молекул развития гамет по мужскому типу и/или выступать в качестве особой модификации, маркирующей способные к активации мейоза популяции мужских ПК.

Ключевые слова: сперматогенез, мужская половая клетка, прелептотена, прохромосома, мейоз

DOI: 10.17650/2070-9781-2016-17-2-104-111

Morphogenetic chromatin reorganization aspects at the preleptotene stage of human spermatogenesis

M. I. Shtaut

Genetics Laboratory of reproductive disorders, Research Center for Medical Genetics; 1 Moskvorech'e St., Moscow, 115478, Russia

Male germ cells pool forms due to proliferation of germ cells during migration into the embryonic gonads and apoptosis. At the different stages of antenatal development a part of germ cells population in the seminiferous cords is represented by cells at the preleptotene stage of meiosis I. In newborns and infants a number of gametes at this stage of meiosis varies. Male germ cells enter meiotic development mainly in the puberty period. One of the theories of the unique chromatin condensation at the preleptotene stage (prochromosome) is a lack of special signal molecules responsible for the male gametes development. Another theory is that it is a modification that marks the germ cells capable of meiosis activation.

Key words: spermatogenesis, male germ cell, preleptotene, prochromosome, meiosis

Мужская репродуктивная система в онтогенезе человека на различных стадиях морфогенеза хорошо изучена. Мужские и женские половые клетки (ПК) (сперматогонии и овогонии) в начале своего развития морфологически не различаются. Гонада потенциально бисексуальна. Если мужские ПК ее не заселяют, то кортикальный слой (из клеток целомического эпителия) развивается в яичник. Если мужские ПК заселяют гонаду, то медулярный мозговой слой из мезенхимных клеток развивается в яичко. Морфологические половые различия гонад заметны не ранее, чем через 6 нед после оплодотворения – к этому моменту можно обнаружить начало группировки ПК и соматических клеток будущих семенных канальцев в структуре тяжей [1–5].

В яичках эмбрионов мужского пола на 6–7-й неделях развития (рис. 1) сразу после половой диффе-

ренцировки гонад овальной формы образуются семенные канальцы, которые изнутри выложены 2–3 рядами недифференцированных клеток Сертоли. ПК крупнее соматических [6], имеют центрально локализованное округлое ядро, заполненное тонкой сетью хроматина и 1–2 ядрышками. Пространство между семенными канальцами эмбрионального типа заполнено мезенхимными клетками [7].

Из первичных ПК, заселивших мужскую гонаду, после ряда митотических делений развиваются несколько типов (число типов видоспецифично) сперматогониев: А0 (собственно стволовые гаметы, которые несколько крупнее остальных ПК), А1, А2, А3, А4, промежуточные и В. Для человека выделяют 6 типов сперматогониев [8]. Сперматогонии типа В трансформируются в сперматоциты I порядка, которые последовательно проходят стадии прелептотены, лептотены,

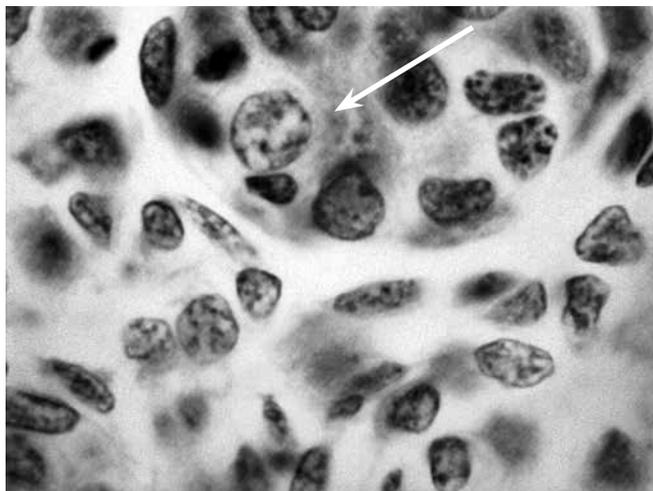


Рис. 1. Срез мужской гонады эмбриона человека через 6,5 нед после оплодотворения: в гонаде начинается формирование половых тяжей из предшественников клеток Сертоли, мигрировавших в гонаду, и домейотических просперматогониев (стрелка) ($\times 1000$)

зиготены, пахитены, диплотены, диакинеза профазы I мейоза [9, 10].

В популяциях мужских ПК на разных сроках антенатального периода развития человека в семенных канальцах выявлено от 2 до 14 % ПК на стадии прелептотены (рис. 2) конденсации и деконденсации хроматина [4]. Максимальное количество ядер ПК на стадии прелептотены характерно для 10–11-недельного плода человека [4]. Митозы в большей части мужских ПК возобновляются после рождения, и вступление ПК в мейоз начинается постнатально, с периода полового созревания.

В настоящий момент информация о динамике прелептотенных преобразований в сперматогенезе фрагментарна [4, 11–13]. Эта стадия непосредственно следу-

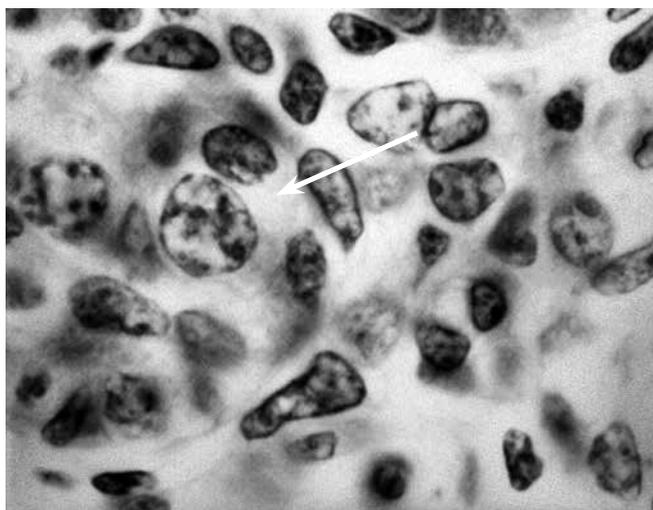


Рис. 2. Срез мужской гонады эмбриона человека через 6,5 нед после оплодотворения: между предшественниками клеток Сертоли образуются ПК, в том числе на стадии прелептотены (стрелка) ($\times 1000$)

ет за последним синтезом ДНК перед началом мейоза. На стадии прелептотены деконденсации прохромосом в ооцитах человека осуществляется последний синтез ДНК [14]. Прелептотенная конденсация хромосом начинается с появления тонких нерегулярных волокон хроматина. На этапе прогрессирующей хромосомной конденсации ядро содержит таких компактных масс (прохромосом) по числу хромосом, равному числу хромосомного набора для вида. Наличие мужских гамет на стадии формирования прохромосом в ядрах без признаков дегенерации, имеющих полное подобие таковым, изученным нами количественным методом (по хронологии и динамике) в ооцитах эмбрионов и плодов всех сроков внутриутробного развития человека и коровы [3, 15], свидетельствует о реальности формирования клеток с конденсирующимися прохромосомами в ядрах, т. е. на стадии прелептотенных преобразований в ядре ПК, стадии и в сперматогенезе [4]. Постепенно полная деконденсация хроматина приводит к формированию нитевидных хромосом, характерных для стадии лептотены. В лептотене начинается поиск гомологичных участков хромосом [10]. Затем мужские ПК при наступлении полового созревания проходят стадии профазы I мейоза, развивается I деление мейоза.

В сперматогенезе метафаза I наступает сразу после завершения профазы I в отличие от оогенеза, в мейозе которого ооциты переходят в специфическую для него стадию — диктиотену [3, 15]. За стадией диктиотены в ооцитах следует формирование кариосферы (расположение хромосом вокруг ядрышка в плотную хроматиновую массу, окруженную светлым участком нуклеоплазмы), и лишь позже развивается диакинез [3].

Остаются нераскрытыми значения различных преобразований хроматина как в сперматогенезе, так и в оогенезе, в том числе на прелептотенных стадиях и непосредственно перед делением созревания мейоза. Для того чтобы предложить гипотезы относительно таких преобразований хроматина, необходимо оценить морфологические преобразования в ядрах ПК, роль соответствующих ключевых событий в регуляции важных этапов в мейозе.

Материалы и методы

Использовали эмбриональный материал искусственного прерывания беременности в сроки 6,5–11,0 нед внутриутробного развития человека. Для количественного анализа хронологии и динамики популяций мужских ПК применяли срезы гонад эмбрионов и плодов человека, развивающихся по мужскому типу с выраженным строением половых тяжей (будущих извитых семенных канальцев). Препараты постнатальных стадий периода новорожденных [16] были приготовлены из половых желез, извлеченных из окружающих тканей через 5–6 ч с момента наступления смерти (секционный материал).

Для световой микроскопии гистологическую обработку яичек осуществляли по общепринятой для гонад схеме [3]. Фиксацию проводили в смеси Буэна (смесь насыщенного водного раствора пикриновой кислоты, формалина и ледяной уксусной кислоты в соотношении 15:5:1, приготовление *ex tempore*). Использование этой смеси обеспечивает оптимальную остановку процессов, протекающих в клетке, сохраняет в целостности морфологические компоненты клетки и не вызывает образования артефактов. Уксусная кислота способствует сохранению структуры хромосом [17]. После фиксации материала проводили его обезвоживание в спиртах восходящей концентрации и растворе ксилола. Готовили срезы толщиной 6–8 мкм, которые после депарафинирования гонад окрашивали квасцовым гематоксилином Эрлиха с подкраской 0,1 % эозинном и затем заключали в канадский бальзам.

Сравнение морфогенетических событий в ядрах мужских половых клеток периодов пре- и постнатального онтогенеза у человека

Анализ генеративной функции взрослого человека подразумевает оценку состояния ПК, окружающих их

соматических клеток и структур, участвующих в сперматогенезе, начиная с выполнения стандартной спермограммы и других методов исследования эякулята [18], в том числе метода количественного кариологического анализа состава незрелых ПК (Л.Ф. Курило «Способ цитологической диагностики нарушения сперматогенеза», патент на изобретение № 2328736 01.02.2007). Для выяснения причин нарушений генеративных функций информативен гистологический анализ биоптата яичка с помощью различных методов [19]. Модификации таких методов используют для фундаментального исследования генеративной функции на секционном материале (яички человека) и гонадах модельных животных. Индекс сперматогенеза рассчитывают с помощью числа генераций ПК (≤ 4) [20]. Если количество строго поперечных срезов извитых семенных канальцев можно соотнести со строго поперечными срезами половых тяжей даже в период начала их формирования, то сравнивать генерации неинформативно, так как подавляющая часть ПК пренатальных гонад представлена только сперматогониями.

Через 5–10 серийных срезов яичек эмбрионов, плодов человека и новорожденных (как поперечных, так и срезов других плоскостей) подсчитывали ПК (табл. 1).

Таблица 1. Количественные характеристики состава соматических и ПК в яичках эмбрионов и плодов человека мужского пола, новорожденных

Возраст (число изученных организмов)	Нормальные гонии, интерфаза	Митозы ПК	Прелептотенная стадия в ядрах ПК	Дегенерация ПК	Клетки Сертоли
<i>Эмбрионы и плоды человека</i>					
6,5 недель (1)	533	59	43	19	6203
6,5 недель (1)	157	18	45	43	537
7–8 недель (1)	40	5	0	4	255
7–8 недель (1)	166	29	4	20	3315
9 недель (1)	319	7	16	10	2040
11 недель (1)	51	1	13	4	690
<i>Новорожденные</i>					
1 сутки (1)	123	1	2	16	1275
1 сутки (1)	243	3	19	11	2385
2 суток (1)	31			5	326
3 суток (1)	36		2	21	637
5 суток (1)	22			40	1020
1 месяц (1)	109		21	8	1020
2 месяца (1)	194		4	31	1275
6 месяцев (1)	61		4	7	755
7 месяцев (1)	39		26	9	613
7,5 месяцев (1)	270	1	28	4	1635

Для количественного анализа состава клеток использовали следующие параметры:

- доля ПК на прелептотенной стадии профазы I мейоза относительно числа всех подсчитанных ПК от общего числа ПК;
- доля дегенерирующих ПК от общего числа анализируемых ПК;
- доля митотически делящихся ПК от общего числа подсчитанных ПК [3].

Результаты и обсуждение

Для прочтения количественных данных результаты подсчета от близких по возрасту эмбрионов, плодов или новорожденных объединили (табл. 2).

Формирование пула мужских ПК обеспечивается процессами миграции ПК к половым валикам, пролиферации ПК во время миграции и в гонадах эмбриона и плода человека, а также в результате апоптоза. Массовая гибель ПК показана для млекопитающих животных через резкое возрастание соотношения апоптических белков бах к защищающему от апоптоза белку bclL [21]. Предполагают, что ранняя волна апоптоза ПК при установлении сперматогенеза [22] необходима для формирования соотношения количества ПК и клеток Сертоли, которое сохраняется до стадии пахитены профазы I деления мейоза в постнатальном периоде. Развитие пула ПК возобновляется у мальчиков в возрасте 4 лет [19], но регулярное пополнение происходит при наступлении полового созревания, для чего необходима возможность сохранения (появления вновь) полипотентности в гаметах. Такая возможность отражает эпигенетические процессы гаметогенеза, характерные для глобального явления мейоза у млекопитающих [23]. Анализ различных аспектов морфогенетических преобразований хроматина в гаметогенезе, их функ-

циональная значимость представляют собой одну из ключевых задач в биологии развития.

Пролиферация ПК в антенатальном периоде прослеживается по морфологии ПК, вступающих в митоз (рис. 3).

Ремоделирование хромосом в ПК перед важными мейотическими событиями обеспечивает гаметам возможность прохождения процессов, уникальных для ПК: кроссинговера и способности пройти 2 деления мейоза [15]. При этом в мейозе наблюдают полоспецифические особенности гаметогенеза (по динамике, хронологии дифференцировки ПК). Они формируются во многом через контакт с соматическими клетками и тканями будущих гонад.

При сравнении начала формирования мужских и женских гонад важно отметить, что после контакта жен-

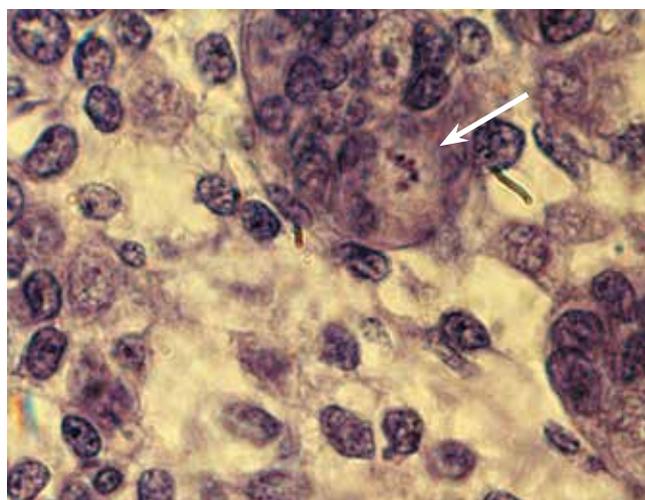


Рис. 3. Мужская гонада эмбриона человека через 7 нед после оплодотворения: ядро ПК на стадии метафазы (стрелка) ($\times 1000$)

Таблица 2. Количественные характеристики состава соматических клеток и ПК в яичках эмбрионов и плодов человека, новорожденных мужского пола в условных возрастных группах

Возраст (число изученных организмов)	Нормальные гонии, интерфаза (доля подсчитанных клеток от общего числа ПК)	Митозы ПК (доля подсчитанных клеток от общего числа ПК)	Прелептотенная стадия в ядрах ПК (доля подсчитанных клеток от общего числа ПК)	Дегенерация ПК (доля подсчитанных клеток от общего числа ПК)	Клетки Сертоли (доля ПК от общего числа ПК и клеток Сертоли)
<i>Эмбрионы и плоды человека</i>					
6,5–8,0 недель (4)	896 (76,3)	111 (9,4)	92 (7,8)	76 (6,4)	10 310 (10,2)
9–11 недель (2)	370 (87,8)	8 (1,9)	29 (6,8)	14 (3,3)	3151 (11,9)
<i>Новорожденные</i>					
1–2 суток (2)	366 (87,6)	4 (1,0)	21 (5,0)	27 (6,5)	3660 (10,3)
2–5 суток (3)	89 (58,6)	–	2 (1,3)	61 (40,1)	1983 (7,1)
1–2 месяца (2)	194 (84,7)	–	4 (1,7)	31 (13,5)	1275 (15,2)
6,0–7,5 месяцев (3)	370 (82,4)	1 (2,2)	58 (12,9)	20 (4,5)	3003 (13,0)

ских ПК при их миграции из области эпибласта к покровному эпителию гонад они характеризуются высокой митотической активностью. Пул женских ПК в яичниках млекопитающих формируется вследствие пролиферации оогониев в фетальный период [15]. Премейотический синтез ДНК в женских ПК происходит в период деконденсации хроматина (прохромосом) на стадии прелептотены до стадии лептотены включительно. После заключительного цикла такой репликации ДНК, перед первым мейотическим делением [14], оогонии переходят в ооциты I порядка. Они проходят важные длительные стадии профазы I мейоза (лептотену, зиготену, пахитену, диплотену, диакинез), ПК окружают питающие фолликулярные клетки [24]. В период 10,5–11,0-недельного пренатального развития значительно увеличивается популяция ПК, часть которых составляют гаметы. В ядрах последних происходит активная прелептотенная деконденсация хромосом [3, 15, 25].

Несмотря на то, что прелептотенные преобразования хромосом с формированием соответствующих структур, так называемых прохромосом, описаны в начале XX века [26], эти морфологические характеристики упаковки хроматина не достаточно исследованы, а описаны преимущественно для растений. Возможно, свою роль сыграл и неудачный термин, предложенный исследователями. По сути, прохромосомы являются хромосомами, в динамике хроматин этих структур лишь приобретает особую форму, похожую на отчетливые индивидуальные глыбки хроматина, число которых равно числу хромосом данного вида. Частица «про» предполагает некую предшествующую хромосомам структуру. Кроме этого, термин «прохромосомы» предлагается синонимом к термину «хромоцентр» [27], что вносит дополнительную путаницу в попытки описания динамических морфологических структур в ПК на определенном этапе дифференцировки гамет.

Гипотеза о состоянии различной степени конденсации хроматина в гаметах исходит из начальной бисексуальности соматических тканей в гонадах. Относительно причин прелептотенных преобразований хроматина можно предположить, что генетические и эпигенетические механизмы инициируют мейоз в гонадах плодов как женского, так и мужского пола [7, 28]. Однако дальнейшее развитие мужских ПК (рис. 4, 5) находится в зависимости от соматических элементов развивающейся гонады.

Доля ПК на прелептотенных стадиях в мужских гонадах эмбрионов и плодов человека разных возрастов составляет 2–14 %, а доля ПК от общего числа клеток семенных канальцев – 3–16 % [4]. Динамика появления среди мужских гамет стадии формирования прохромосом в ядрах была проанализирована количественно и по данным литературы [4], с которыми можно сравнить показатели в антенатальном и постнатальном

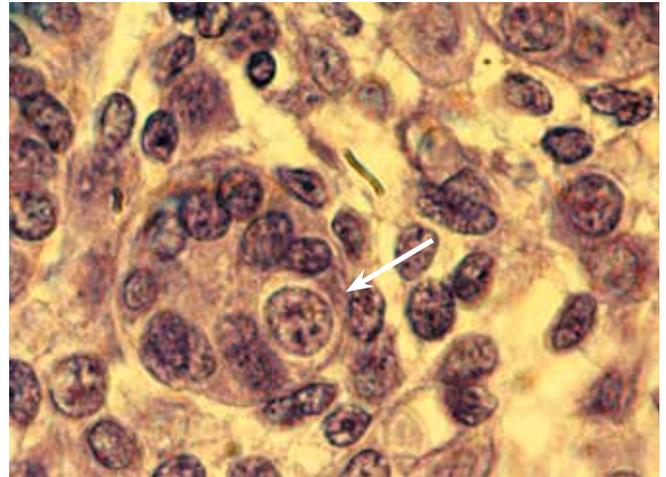


Рис. 4. Мужская гонада эмбриона человека через 7 нед после оплодотворения: на поперечном срезе эмбрионального семенного канальца среди ядер клеток Сертоли крупное ядро ПК (стрелка) ($\times 1000$)

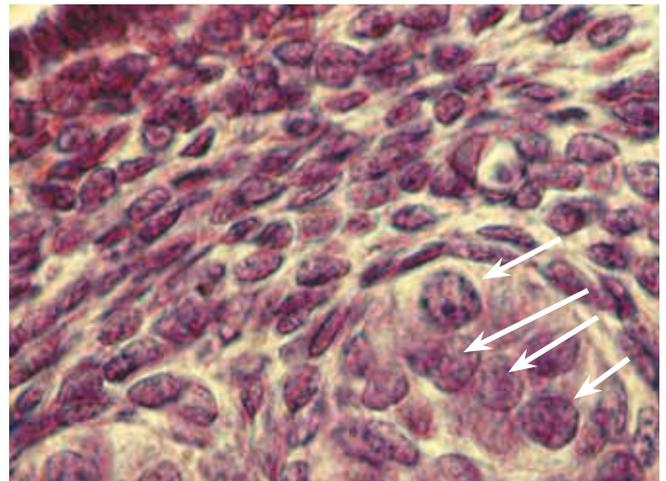


Рис. 5. Мужская гонада эмбриона человека через 6,5 нед после оплодотворения: поперечный срез семенного канальца эмбрионального типа с округлыми крупными ПК (стрелки) ($\times 1000$)

периодах. Максимальные показатели ПК на прелептотенных стадиях в антенатальном периоде характерны для 10–11-недельного плода человека. Гонады у плода этого возраста крупные, на срезах извитых семенных канальцев среди ПК мы выявили гонии, митозы ПК и ПК на прелептотенных стадиях (рис. 6–8).

Мезенхимные клетки интерстициального пространства развиваются в клетки Лейдига, секретирующие тестостерон. Ближе к половому созреванию организма клетки Сертоли приобретают конечную структуру (столбчатую форму, многолопастное ядро, светлую нуклеоплазму) под действием фолликулостимулирующего и лютеинизирующего гормонов, а также тестостерона. До приобретения всех признаков зрелости эти клетки секретируют ингибин В и антимюллеровский гормон. Возможно, одной из причин возникновения небольшого количества ПК на прелептотенных стадиях

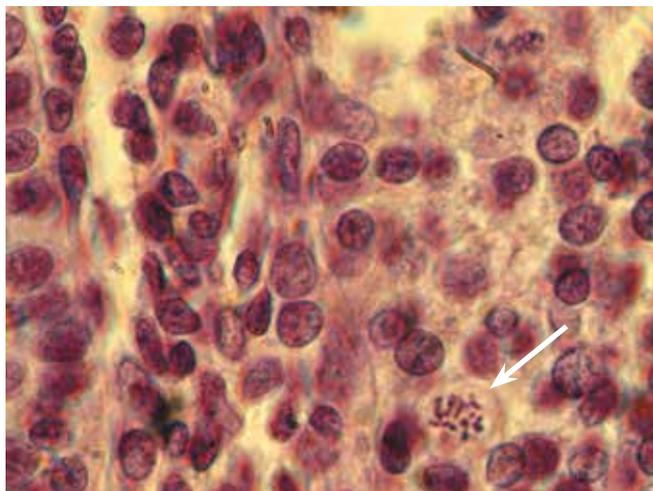


Рис. 6. Мужская гонада эмбриона человека через 11 нед после оплодотворения: митоз в ПК (стрелка) ($\times 1000$)

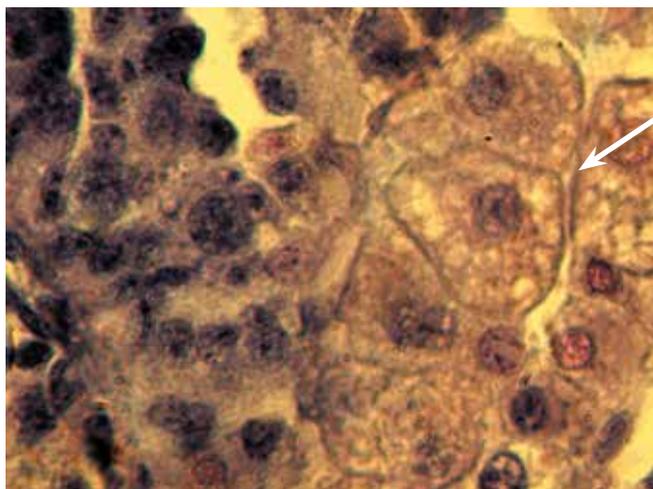


Рис. 7. Мужская гонада эмбриона человека через 11 нед после оплодотворения: клетки извитых семенных канальцев (слева) окружены клетками Лейдига (стрелка) ($\times 1000$)

является недостаточность сигнальных молекул развития по мужскому типу. Кроме этого, один из завершающих этапов дифференцировки клеток Сертоли — образование плотных контактов из цитоплазматических отростков между соседними клетками, т. е. формирование компонента гемато-тестикулярного барьера (ГТБ). У млекопитающих формирование ГТБ совпадает с появлением просвета в семенных канальцах [29]. ГТБ не допускает попадания дифференцирующихся мужских ПК в кровь, разделяет стволовые и дифференцированные в различной степени мужские ПК, выполняет функции защиты ПК от мутагенов и иммунной защиты ПК. Такая защита важна, в том числе и потому, что ПК на протяжении длительного периода деметилированы, так как родительские метки метилирования стираются в ДНК первичные ПК во время миграции к половым валикам [30], а метилирование *de novo* ДНК

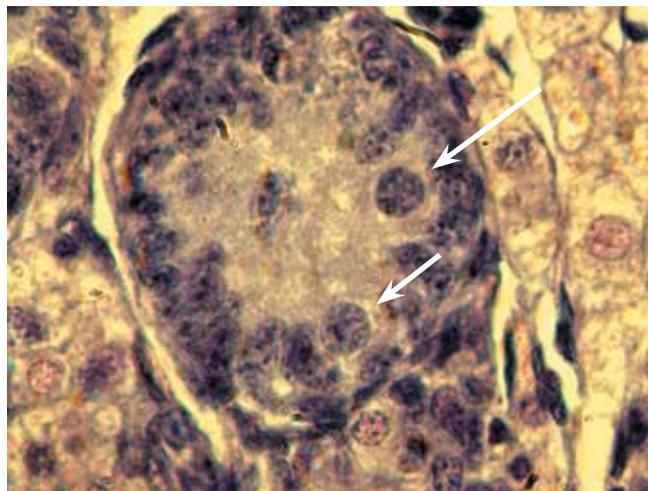


Рис. 8. Мужская гонада эмбриона человека через 11 нед после оплодотворения: поперечный срез извитых семенных канальцев, в котором видны ядра клеток Сертоли неправильной формы и округлые ПК (стрелки), окруженные клетками Лейдига ($\times 1000$)

в мужских ПК происходит на поздних стадиях их созревания [31]. Кроме этого, ГТБ обеспечивает попадание необходимых веществ в семенные канальцы из крови. Формирование ГТБ начинается в антенатальный период онтогенеза и продолжается в постнатальный; в течение всей репродуктивной жизни в мужском организме происходит самообновление ГТБ [32]. От правильного и своевременного образования структуры различных компонентов ГТБ также зависит формирование сигнальных путей молекул развития гамет по мужскому типу.

Часть таких путей обеспечивает блок митоза ПК в гонадах у изученных видов млекопитающих на достаточно длительном видоспецифичном периоде до полового созревания. Для модельных объектов предложены кандидатные гены, экспрессирующие консервативный белок подавления митоза в мужских ПК во время продолжительного периода блока их пролиферации до полового созревания. Сперматогонии мышей при недостатке белка базонуклеин 2 (*bnc2*) рано вступают в мейоз [12]. Консервативный белок *bnc2* присутствует только в мужских ПК, останавливает митоз и блокирует мейоз, связываясь с ДНК. Если особи имеют мутации в гене *BNC2*, то клетки входят в преждевременный («ошибочный») мейоз. В предшественниках сперматогонииальных клеток таких особей (*bnc2* (—/—)) начинается синтез одного из белков латеральных элементов синаптонемного комплекса (*sur3*) у позвоночных, постепенное его накопление с последующим блоком после рождения на стадии лептотены. Просперматогонии мутантных особей *bnc2* (—/—) не подвергаются своевременной дифференцировке, поскольку они испытывают недостаток в специфичных типах микроРНК мужского метилирования белка *dnmt3l* и недостаток микроРНК, которые кодируют мейоти-

ческие белки, включая *stra8*. Предшественники ПК мутантных особей могут перейти в сперматогонии, но они вступают в мейоз преждевременно и подвергаются апоптозу. Ввиду консервативности *bnc2* события и такие результаты, вероятно, будут относиться ко многим видам млекопитающих. Помимо молекулярных путей блока митоза существенную роль могут играть факторы дифференцировки ПК в длительном периоде. Например, для человека устойчивое появление сперматогониев типа В отмечают в раннем детстве [19].

ПК на прелептотенной стадии в канальцах эмбрионального типа у новорожденных (рис. 9) и у детей грудного возраста встречаются в различном соотношении и даже могут отсутствовать. Считается, что факторы развития ПК блокируют митоз до рождения или позволяют преодолевать такой блок по неясным причинам. Поэтому предполагают некое «тестирование» способности к активации мейоза после более чем 10-летнего «молчания» в клонах популяции мужских ПК человека на особых клетках, развивающихся из стволовых сперматогониев таких клонов. В этом случае уникальная конденсация хроматина ПК на прелептотенных стадиях может выступать в качестве особой модификации, маркирующей здоровые, способные развиваться через десятки лет, клоны (мужских ПК). Клоны без меток, если они проявляются, предположительно перехо-

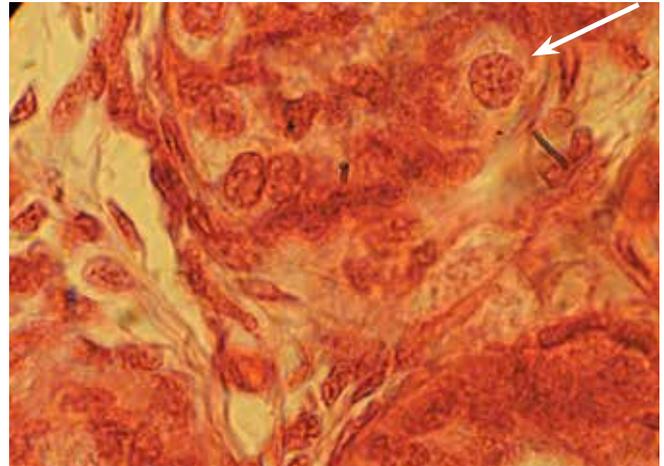


Рис. 9. Срезы канальцев эмбрионального типа яичка новорожденного (1-е сутки после рождения, секционный материал): у края канальца ПК с прелептотенной конденсацией хроматина (стрелка) ($\times 1000$)

дят к апоптозу. Кроме этого, эти метки также должны особым образом элиминироваться; в постнатальных семенниках такие стадии мы не находим. Вероятно, мужские ПК, передаваемые следующим поколениям, должны развиваться из гониев с большей потенциальностью.

Выражаем благодарность за предоставленный секционный материал д.м.н., проф. А.Ф. Астраханцеву.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Райцина С.С. Цикл сперматогенного эпителия и кинетика сперматогенеза у млекопитающих. Под ред. С.А. Бурнашева, Н.С. Габаева, Л.В. Данилова. В кн.: Современные проблемы сперматогенеза. М.: Наука, 1982. С. 73–107. [Raytsina S.S. Seminiferous epithelium cycle and spermatogenesis kinetics at mammals. By eds.: S.A. Burnashev, N.S. Gabaev, L.V. Danilov. In book: Modern spermatogenesis problems. Moscow: Nauka, 1982. Pp. 73–107. (In Russ.)]
2. Кожухарь В.Г., Валькович Э.И. Ранняя дифференцировка поддерживающих клеток извитых семенных канальцев у человека (ультраструктурные проявления). Архив анатомии, гистологии и эмбриологии 1985;1(10):93–9. [Kozhukhar' V.G., Val'kovich E.I. Early differentiation of supporting cells of convoluted seminiferous tubules at humans (ultrastructural manifestations). Arkhiv anatomii, gistologii i embriologii = Archive of Anatomy, Histology and Embryology 1985;1(10):93–9. (In Russ.)].
3. Курило Л.Ф. Морфофункциональные характеристики оогенеза млекопитающих и человека. Дис. ... д-ра биол. наук. М.: НИИ биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, 1985. С. 470. [Kurilo L.F. Morphofunctional characteristics of mammals and humans oogenesis. Thesis ... of doctor of biological sciences. Moscow: N.K. Kol'tsov Research Institute of Development Biology RAS, 1985. P. 470. (In Russ.)].
4. Хилькевич Л.В., Курило Л.Ф. Кинетика популяции мужских половых клеток человека в антенатальном периоде онтогенеза. Онтогенез 1992;23(5):506–10. [Hil'kevich L.V., Kurilo L.F. Kinetics of the population of male sex cells in the antenatal ontogenesis period. Ontogenez = Ontogenesis 1992;23(5):506–10. (In Russ.)].
5. Padmini M.P., Rao B.N. Prenatal histogenesis of human fetal testis. Intern J Basic Appl Med Sci 2012;2(2):112–6.
6. Кожухарь В.Г. Первичные половые клетки млекопитающих и человека. Происхождение, идентификация, миграция. Цитология 2011;(3):211–20. [Kozhukhar' V.G. Mammals' and human genocytes. Origin, identification, migration. Tsitologiya = Cytology 2011;(3):211–20. (In Russ.)].
7. Хилькевич Л.В. Критерии оценки повреждающего действия экзогенных факторов на сперматогенез человека и млекопитающих животных. Гистология, цитология, эмбриология. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М.: Университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы, 1991. 162 с. [Hil'kevich L.V. Evaluation criteria of damaging action of exogenous factors of the human and mammals' spermatogenesis. Gistologiya Histology, cytology, embryology. Author's abstract of thesis ... of candidate of biological sciences. Moscow: Patrice Lumumba Peoples' Friendship University, 1991. 162 p. (In Russ.)].
8. Clermont Y. The cycle of the seminiferous epithelium in man. Am J Anat 1963;112:35–51.
9. Alberts B., Johnson A., Lewis J. et al. Molecular Biology of the Cell. 4th ed. New York: Garland Science, 2002. P. 712.
10. Торгашева А.А. Мейоз: что нужно пережить ради уменьшения числа хромосом вдвое. Вавиловский журнал генетики и селекции 2013;17(1):17–28. [Torgasheva A.A. Meiosis: what one has to survive in order to reduce the number of chromosomes twice. Vavilovskiy zhurnal genetiki i selektsii = Vavilov Journal Genetics and Selection 2013;17(1):17–28. (In Russ.)].
11. Shao B., Guo Y., Wang L. et al. Unraveling the proteomic profile of mice testis during the initiation of meiosis. J Proteomics 2015;120:35–43.



12. Vanhoutteghem A., Messiaen S., Hervé F. et al. The zinc-finger protein basonuclin 2 is required for proper mitotic arrest, prevention of premature meiotic initiation and meiotic progression in mouse male germ cells. *Development* 2014;141(22):4298–310.
13. Wakayama T., Nakata H., Kumchanteuk T. et al. Identification of 5-bromo-2'-deoxyuridine-labeled cells during mouse spermatogenesis by heat-induced antigen retrieval in lectin staining and immunohistochemistry. *J Histochem Cytochem* 2015;63(3):190–205.
14. Гапиенко Е.Ф., Маркелова И.В. Авторадиографическое исследование ранних этапов женского мейоза человека в органной культуре. *Архив анатомии* 1976;70(6):30–41. [Gapienko E.F., Markelova I.V. Autoradiographical studies of early stages of human women meiosis in the organoid culture. *Arkhiv anatomii = Archive of Anatomy* 1976;70(6):30–41. (In Russ.)].
15. 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.)].
16. Bogin V. Evolutionary perspective on human growth. *Annu Rev Anthropol* 1999;28:109–53.
17. Роскин Г.И., Левинсон Л.Б. Микроскопическая техника. М.: Советская наука, 1957. С. 469. [Roskin G.I., Levinson L.B. Microscopic technique. Moscow: Sovetskaya Nauka, 1957. P. 469. (In Russ.)].
18. 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., Shileyko L.V. System of the evaluation of the status of human and mammals' spermatogenesis (clinical lectures). *Andrologiya i genital'naya khirurgiya = Andrology and Genital Surgery* 2005;(4):8–17. (In Russ.)].
19. Астраханцев А.Ф. Структура мужских половых желез в постнатальном онтогенезе. Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Рязань, 1996. С. 48. [Astrakhantsev A.F. Structure of men sexual glands in the postnatal ontogenesis. Author's abstract of the thesis ... of doctor of medical sciences. Ryazan', 1996. P. 48. (In Russ.)].
20. Ухов Ю.И., Астраханцев А.Ф. Морфометрические методы в оценке функционального состояния семенников. *Архив анатомии, гистологии и эмбриологии* 1983;(3):66–72. [Ukhov Yu.I., Astrakhantsev A.F. Morphometric methods in the evaluation of the functional status of testis. *Arkhiv anatomii, gistologii i embriologii = Archive of Anatomy, Histology and Embryology* 1983;(3):66–72. (In Russ.)].
21. Rodriguez I., Ody O., Araki K. et al. An early and massive wave of germinal cell apoptosis is required for the development of functional spermatogenesis. *EMBO J* 1997;16(9):2262–70.
22. Morales A., Mohamed F., Cavicchia J.C. Apoptosis and blood-testis barrier during the first spermatogenic wave in the pubertal rat. *Anat Rec* 2007;290(2):206–14.
23. Курило Л.Ф., Штаут М.И. Генетические и эпигенетические механизмы регуляции, хронология и динамика сперматогенеза у млекопитающих. *Андрология и генитальная хирургия* 2015;(1):31–40. [Kurilo L.F., Shtaut M.I. Genetic and epigenetic regulation mechanisms, chronology and dynamics of mammals' spermatogenesis. *Andrologiya i genital'naya khirurgiya = Andrology and Genital Surgery* 2015;(1):31–40. (In Russ.)].
24. Курило Л.Ф. Развитие эмбриона человека и некоторые морально-этические проблемы методов вспомогательной репродукции. *Проблемы репродукции* 1998;(3):39–49. [Kurilo L.F. Human embryo development and some moral & ethical problems of the assisted reproduction. *Problemy reproduksii = Reproduction Problems* 1998;(3):39–49. (In Russ.)].
25. Курило Л.Ф., Теплякова Н.П. Хронология и динамика развития женских половых клеток в яичниках плодов крупного рогатого скота. *Онтогенез* 1986;17(2):190–9. [Kurilo L.F., Teplyakova N.P. Chronology and dynamics of the development of female sex cells in ovaries of cattle fetuses. *Ontogenez = Ontogenesis* 1986;17(2):190–9. (In Russ.)].
26. Вильсон Э. Клетка и ее роль в развитии и наследственности. Т. 1. М.–Л.: ГИБМЛ, 1936. С. 211–212. [Wil'son E. Cell and its role in the development and heredity. Vol. 1. Moscow-Leningrad: GIBML, 1936. Pp. 211–212. (In Russ.)].
27. Overton J.B. Über Reduktionsteilung in den Pollenmutterzellen einiger Dikotylen. *Jahrb f wiss Bot* 1905;42:121–53.
28. Ohno S., Klinger H.P., Atkin N.B. Human Oogenesis. *Cytogenetics* 1962;1:42–51.
29. Райцина С.С. Сперматогенез и структурные основы его регуляции. М.: Наука, 1985. С. 208. [Raytsina S.S. Spermatogenesis and structural elements of its regulation. Moscow: Nauka, 1985. P. 208. (In Russ.)].
30. 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. *Meditinskaya genetika = Medical Genetics* 2012;11(4):10–8. (In Russ.)].
31. Davis T.L., Trasler J.M., Moss S.B. et al. Acquisition of the H19 methylation imprint occurs differentially on the parental alleles during spermatogenesis. *Genomics* 1999;58(1):18–28.
32. Smith B.E., Braun R.E. Germ cell migration across Sertoli cell tight junctions. *Science* 2012;338(6108):798–802.