

УДК 591.31

КОНЦЕПЦИЯ РАННЕГО ЭМБРИОГЕНЕЗА ЧЕЛОВЕКА

В.М. Галков, Н.В. Галкова, Т.М. Аглямова

Аннотация

Предлагается гипотеза, согласно которой целостный организм человека представляет собой генетически гетерогенную систему, каждая часть которой происходит из разных частей ядра ооцита. Гемопозитическая и половая системы формируются в желточном мешке из ядра ооцита, оплодотворенного сперматозоидом, и на ранних стадиях гоноциты и клетки крови мигрируют в примитивные сосуды и протоки эмбриона. Система хорион-плацента образуется из первого полярного тельца и представлена материнскими клетками.

Как известно, оплодотворение яйцеклетки наступает в ампулярной части трубы. В течение трех суток в оплодотворенном яйце, проходящем по трубе, происходит асинхронное дробление, которое приводит к образованию морулы [1]. В стадии морулы зародыш поступает в матку, представляя собой у млекопитающих и человека рыхлый комплекс бластомеров. Бластомеры наружного слоя образуют трофобласт, а расположенные внутри – эмбриобласт. В течение четвертого дня в моруле возникает полость, и она превращается в бластоцисту. На одном из полюсов бластоцисты отделяется группа клеток, получившая название внутренней клеточной массы. Из этих клеток формируются зародыш и некоторые внезародышевые части (желточный мешок, аллантаис).

Трофобласт бластоцисты, погружаясь в ткани эндометрия, быстро разрастается путем митоза, становится многослойным и образует первичные ворсины. Клетки трофобласта проникают не только в глубокие слои децидуальной ткани, но и в соединительнотканые прослойки миометрия и стенки маточных сосудов, где резорбируют вещества, образующиеся в результате распада материнских тканей, эритроцитов, и используют их для питания зародыша (гистотрофная фаза развития). В дальнейшем, трофобласт развивается в гладкий и ветвистый хорион [1]. К хорошо снабженному кровеносными сосудами ветвистому хориону прикрепляется ножка плода (пуповина), несущая сосуды зародыша в хорион. Из ворсин ветвистого хориона образуется фетальная плацента – орган, который берет на себя все виды снабжения плода питательными веществами и кислородом, а также выведение из организма плода ненужных ему продуктов. С начала циркуляции эмбриональной крови к концу первого месяца беременности наступает постепенный переход зародыша от гистотрофного к гемотрофному питанию.

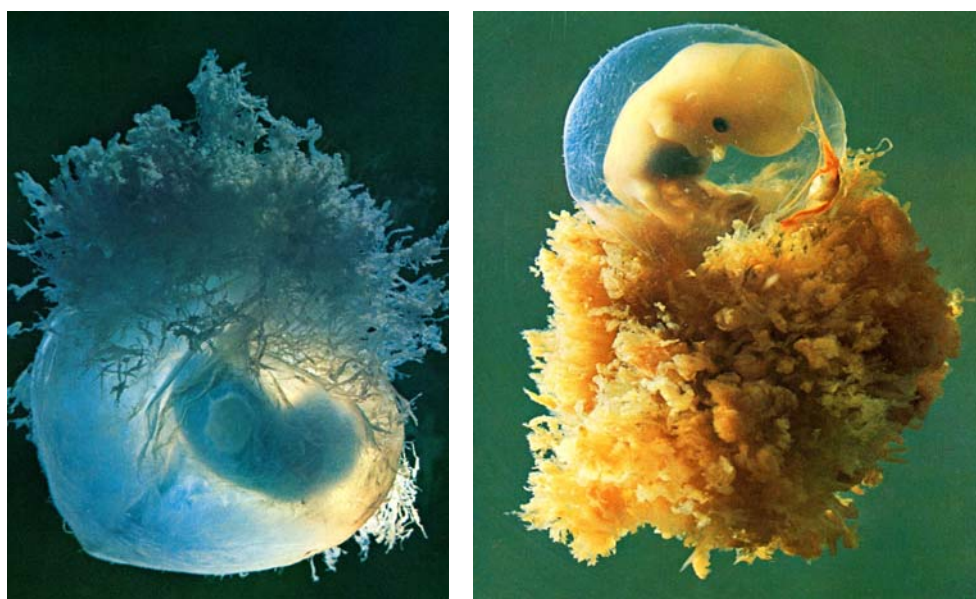


Фото 1 Эмбрионы человека: а) 45-дневный; б) 54-дневный (взяты из проспекта Гестана Университета Неймеген – А (Голландия))

При развитии трофобласта большой интерес представляет постоянная миграция во время нормальной беременности элементов трофобласта из межворсинковых пространств плаценты в материнский организм.

Установлено, что в крови, оттекающей от матки, всегда обнаруживаются в том или ином количестве типичные трофобластические многоядерные симпласты диаметром от 100 до 200 микрон. Количество ядер достигает больших цифр – от 30 до 150. В материнский кровоток в течение дня из плаценты поступает до 150 000 многоядерных симпластов; в контрольных пробах крови, взятых из бедренных и локтевых вен, элементов трофобласта не содержалось. Это указывает на то, что многоядерные симпласты из легких в периферическое кровообращение матери не поступают. По мнению ряда авторов, в результате постоянной миграции клеток трофобласта в материнский организм достигается иммунная совместимость – «толерантность» к зародышевым тканям, благодаря которой и сохраняется беременность.

На фото 1 у 45-дневного (а) и 54-дневного эмбрионов (б) хорошо видны хорионы, причем у 54-дневного (б) – с сосудистой сетью, а также эмбрионы плода в амниотической полости.

Морфологическим доказательством реальной возможности существования иммунной толерантности к симпластам трофобласта служит отсутствие реакции отторжения вокруг выявленных элементов трофобласта в легких матери, что было бы неизбежно при сохранении чувствительности ее организма к данному антигену. Однако следует отметить, что, исходя из теории иммунной толерантности, невозможно объяснить случаи возникновения резус-конфликта во время беременности.

Ряд авторов [1, 2] обнаружил половой хроматин в 73% ядер клеток плацентарных перегородок и островков у плодов мужского пола. Это позволило сде-

лать вывод о том, что эти клетки являются децидуальными, т. е. материнскими. Ошибочность такого вывода доказана Жемковой (см. [2]). Соблюдая ряд условий подсчета полового хроматина в плацентах от плодов мужского пола, она получила подтверждение, что клетки островков являются эмбриональными, т. е. трофобластическими элементами, а не децидуальными, материнскими. Наши исследования подтверждают данные автора.

Исходя из того, что согласно общепринятым воззрениям трофобласт-хорион-плацента образуется из оплодотворенной яйцеклетки, решено было проверить в ядрах этих структур от плодов мужского пола наличие Y-хромосомы.

Материалы и методы

В качестве объекта исследования использованы материалы от 25 эмбрионов 6–12 недель беременности, полученные во время искусственного прерывания беременности по желанию женщин; от 25 плодов 16–28 недель беременности, полученные в результате самопроизвольных поздних выкидышей или прерывания беременности по медицинским показаниям; от 25 плодов 32–40 недель беременности, полученных в результате преждевременных или срочных родов. Для исследования взяты кусочки из пуповины, хориона и плаценты. После точной фиксации в 10%-ном растворе формалина приготавливались гистологические срезы из свежемороженых препаратов в количестве не менее 10 на каждый объект исследования. Гистологические препараты подвергались флуоресцентному анализу хромосом по методике Бенюша [1]. Рабочий раствор красителя акрихина содержит 0.5–1.0 мг акрихина, 20 мл стандартного фосфатного или цитратно-фосфатного буфера (рН 6.8) и 80 мл дистиллированной воды. Окраску препаратов производили при комнатной температуре в течение 5 мин. Анализ флуоресцентной окраски производили в падающем свете под микроскопом МБИ-15 при освещении препаратов люминисцентным осветителем ДРШ-250-3. Для возбуждающего света использовали светофильтры СС-15, в качестве запирающего ЖС-3. Объектив ФЛ 90×1.25, окуляр К 10[×], фотоокуляр К 7хп. Фотосъемку производили на пленку микрат-200, время экспозиции 12–15 с. В каждом препарате производили подсчет 100 интерфазных ядер.

Результаты и обсуждение

При всех сроках беременности нами не выявлена флуоресценция Y-хромосомы в ядрах клеток пуповины, хориона и плаценты. Пол плодов нами доказан определением флуоресценции Y-хромосомы в клетках крови, взятой из сосудов пуповины. В последующем те же препараты были окрашены ацетоарсеином для выявления полового хроматина. Половой хроматин выявлен в 55–70% ядер. Отсутствие Y-хромосомы в ядрах клеток пуповины, хориона и плаценты у плодов мужского пола, наличие там же полового хроматина и нахождение при этом у тех же объектов исследования Y-хромосомы в крови наводят нас на мысль о генетической неоднородности плацентарной и кроветворной систем. Это возможно, по нашему мнению, при условии их развития из разных структур зрелой яйцеклетки.

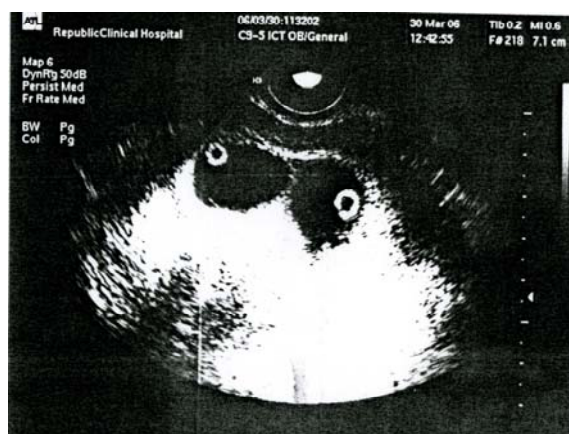


Фото 2. УЗИ-изображение одной из двойни с двумя желточными мешками

На фото 2 мы видим двойню с двумя желточными мешками, развивающимися на 2–3 дня раньше зародышевого диска, что говорит о специфических функциях желточного мешка, не относящихся к питанию плода.

Выявлена генетическая разнородность по Y-хромосоме ядер гоноцитов и остальных клеточных форм семенника у эмбрионов первой половины беременности. Развитие мужской и женской гонад начинается однотипно. Составными элементами развивающихся гонад являются производные целомического эпителия – будущие эпителиальные элементы половых желез; мезенхимная ткань – будущие соединительнотканые и мышечные элементы половых желез; специальные половые клетки, дающие начало половым клеткам обоих полов – оогониям или сперматогониям. Появление половых клеток связано с внезародышевой частью энтодермы желточного мешка. Учитывая, что половой валик образуется из целомического эпителия и мезенхимной ткани, а в дальнейшем заселяется мигрирующими из энтодермы желточного мешка гоноцитами, нами предпринята попытка исследования генетической однородности указанных выше структур у эмбрионов мужского пола в первой половине беременности.

Проведено обследование 47 эмбрионов мужского пола на сроках беременности от 14 до 20 недель. При исследовании гистологических срезов семенников флуоресцентным методом выявлены ядра интерстициальных клеток, клеток Сертоли, гоноцитов. Флуоресцентный анализ ядер клеток семенников показал наличие Y-хромосомы в гоноцитах и отсутствие ее в остальных клеточных формах. Полученные данные, вероятно, позволят перенести вопрос о возможности возникновения аутоиммунных нарушений сперматогенеза на более ранний период эмбрионального развития, и не исключено, что более углубленные исследования в этом направлении будут способствовать решению вопроса о времени возникновения гистогематического барьера семенников.

У современных эмбриологов некоторое недоумение вызывает образование у высших млекопитающих желточного мешка, так как с развитием плаценты отпадает необходимость в желтке, и все питание зародыша осуществляется через плаценту.

Как установлено [2], первые клетки крови появляются не в теле зародыша, а вне его – в мезенхиме стенки желточного мешка. Первые признаки того, что в

стенке желточного мешка началась закладка клеток крови и кровеносных сосудов, – это появление в ней отдельных плотных участков. Микроскопическое исследование этих участков показывает, что они представляют собой очаги скопления мезенхимных клеток. Очаги получили название кровяных островков, которые обнаруживаются у человеческого эмбриона уже в возрасте 13 дней. Единичные вначале кровяные островки быстро увеличиваются в количестве, соединяются друг с другом тяжами, имеющими такое же гистологическое строение, как и островки. Клетки, занимающие периферическое положение, уплощаются, соединяются своими краями, превращаясь в эндотелиальные клетки, образующие сеть тонкостенных сосудов. Несколько позже сходным образом возникают сосуды и в мезенхиме тела эмбриона. Отличие заключается в том, что в кровяных островках вне тела эмбриона ангио- и гематогенные процессы идут параллельно, в теле же эмбриона мезенхима образует только свободные от крови эндотелиальные трубочки. Возникающие таким образом эмбриональные и внеэмбриональные сосуды соединяются. В этот момент внеэмбрионально образованная кровь поступает в тело эмбриона. Одновременно регистрируются и первые сокращения сердечной трубки. Тем самым начинается становление первого желточного круга кровообращения развивающегося зародыша. В дальнейшем развивается хориальное кровообращение, которое затем преобразуется в плацентарное.

В настоящее время нет четких данных, позволяющих заключить, являются ли описанные процессы результатом миграции кроветворных клеток из стенки желточного мешка или мезенхима в разных участках тела эмбриона проявляет собственные гемопоэтические потенции.

Вопрос о природе стволовой кроветворной клетки издавна привлекает внимание исследователей. Клеточные элементы, обнаруживающие свойства стволовых кроветворных клеток, в ходе индивидуального развития впервые обнаруживаются среди клеточных элементов кровяных островков в стенке желточного мешка. Наличие стволовых клеток в составе кровяных островков доказывается по способности суспензии из этой области восстанавливать кроветворный процесс, угнетенный при лучевом поражении, по способности колониеобразования в селезенке и на агаре.

Примерно в то же время в энтодерме стенки желточного мешка впервые обнаруживаются половые клетки (первичные гоноциты). По-видимому, не случайно в стенке желточного мешка проявляется высокая метаболическая активность важнейших систем: первичные кроветворные и половые клетки впервые обнаруживаются еще в доорганный период развития и лишь позже «колонируют» соответствующие зачатки.

Половые клетки (гоноциты), независимо от будущего пола, происходят из заднего участка внезародышевой энтодермы желточного мешка. В эмбрионе человека на стадии 13 сомитов гоноциты находятся исключительно в стенке желточного мешка. На стадии 16 сомитов одна часть гоноцитов образует скопления, отчетливо локализованные в вентральной части хвостовой кишки, расположенной между желточным мешком и аллантаидной ножкой; в то время как другая часть гоноцитов находится еще в дорсо-каудальной части стенки желточного мешка. Первичные гоноциты проникают в будущую сеть желточ-

ных вен еще в то время, когда она состоит только из независимых кровяных островков, не установивших связей с другими, следовательно, до возникновения общей сосудистой системы. Из области своего возникновения половые клетки мигрируют в область половых валиков. Миграция начинается с последних дней третьей недели развития и усиливается в течение четвертой недели.

Миграция половых клеток происходит по кровеносным сосудам с током крови путем их пассивного вовлечения или путем их амeboидных движений. Эти клетки мигрируют через мезенхиму стенки задней кишки, а после этого вдоль ее брыжейки в половой валик. Опыты с пересадкой полового валика в разные сроки его существования убедительно свидетельствуют о первичной локализации этих клеток вне полового валика.

На ранних стадиях развития эмбриона гистологический анализ половых валиков не позволяет дифференцировать яичник и семенник. У эмбрионов длиной до 17 мм еще нет признаков, указывающих на будущий пол зародыша. У эмбрионов длиной 17–20 мм уже появляются определенные особенности, свидетельствующие о происходящей половой дифференцировке гонад. Половой валик в это время буквально набит половыми клетками.

Половая дифференцировка генитального тракта происходит спустя некоторое время после половой дифференцировки гонад. Исходное состояние генитальных структур у всех зародышей является одинаковым, как бы индифферентным, независимо от генетического определения пола. На этой ранней стадии имеются как женские – мюллеровы, так и мужские – вольфовы протоки. Кастрация таких зародышей у млекопитающих неизменно приводит к такому состоянию, которое по существу характеризует женский тип: вольфовы протоки исчезают, мюллеровы – сохраняются, хотя развиты они несколько слабее, чем у нормальных самок. Таким образом, кастрация с полной очевидностью показала, что развитие женских половых структур у зародышей млекопитающих не нуждается в действии половых гормонов и в наличии яичников. В то же время гениталии мужского типа могут развиваться только при наличии полового гормона семенника, который обуславливает дифференцировку вольфовых протоков и редукцию мюллеровых протоков [2].

Как отмечает ряд исследователей, развитие организма самки, как и развитие организма внутриутробно кастрированного самца обеспечивается одной генетической регуляцией, осуществляющей развитие организма по «нейтральному» типу развития. У млекопитающих, как и у некоторых других позвоночных, исходным является женский пол, тогда как мужские половые признаки представляют собой результат модификации под действием мужских половых гормонов [2].

По современным воззрениям под оплодотворением понимается совокупность процессов, начинающихся с контактирования гаплоидного яйца и сперматозоида и до момента слияния пронуклеусов. В результате этого оплодотворенная яйцевая клетка приобретает диплоидный набор хромосом, обеспечивающий передачу наследственных свойств отца и матери.

Активация яйца к развитию может протекать и без участия сперматозоидов. У некоторых животных развитие яиц без оплодотворения происходит строго закономерно и носит название естественного партеногенеза (девственное раз-

витие). Последний распространен среди насекомых, низших ракообразных, колвраток, ящериц, птиц.

Изменения, вызываемые в яйце проникновением сперматозоида, можно вызвать искусственно в яйцах многих животных, в том числе и млекопитающих. Развитие неоплодотворенного яйца, вызванное путем, например, механической или химической стимуляции, называют искусственным партеногенезом. У некоторых групп животных искусственная стимуляция яиц приводит к полноценному развитию зародыша.

Не исключена возможность партеногенетического развития и у человека, свидетельством чего являются зародышевые опухоли (дермоидные кисты, тератомы).

Установлено, что в некоторых случаях естественного партеногенеза и в большинстве случаев искусственного происходит удвоение набора хромосом в ядре яйцеклетки в состоянии пронуклеуса, в результате чего развивается диплоидная взрослая особь. Наблюдаемое явление подчеркивает тот факт, что в яйцеклетке имеются все факторы, необходимые для самостоятельного развития. Следовательно, яйцеклетку можно рассматривать как саморазвивающуюся систему, готовую вступить в действие при контакте с внешним стимулом. При этом очевидно, что проникновение сперматозоида нельзя считать строго специфическим стимулом, поскольку весьма разнообразные внешние стимулы приводят к тому же результату [3].

Партеногенез показывает, что гаплоидный набор хромосом яйцеклетки во многих случаях способен обеспечить развитие из яйцеклетки взрослого организма. Если это так, то можно задать вопрос: почему такого рода размножение не является доминирующим? Большинство организмов в ходе эволюции перешло к половому размножению, при котором соединение двух наборов хромосом от различных особей обеспечивает большую структурную и функциональную изменчивость диплоидного потомства по сравнению с гаплоидным. Эта изменчивость открывает более широкие возможности для действия эволюционных факторов, и, по-видимому, способствует выживанию вида. В эволюционном аспекте перекрестное оплодотворение обладает несомненным преимуществом. Что же касается способности к партеногенетическому развитию, то она, возможно, в процессе эволюции не потеряна, а возобновляется в каждом, вновь развивающемся организме [4].

Не вдаваясь в подробности созревания и роста половых клеток, рассмотрим фазы деления этих клеток непосредственно перед оплодотворением. По А.К. Дондуа в результате мейоза сперматоцита образуется четыре жизнеспособных сперматозоида; женская же яйцеклетка в результате мейотического деления преобразуется в одну жизнеспособную яйцеклетку и три вырождающихся полярных тельца, при этом как сперматозоиды, так и яйцеклетка содержат у человека по гаплоидному набору хромосом – 23 [2].

Исходя из современной теории оплодотворения, полярные тельца исчезают, чтобы обеспечить яйцеклетке гаплоидный набор хромосом, тем самым создаются предпосылки для слияния гаплоидного набора хромосом ядра яйцеклетки с гаплоидным набором хромосом ядра сперматозоида, чем обеспечивается

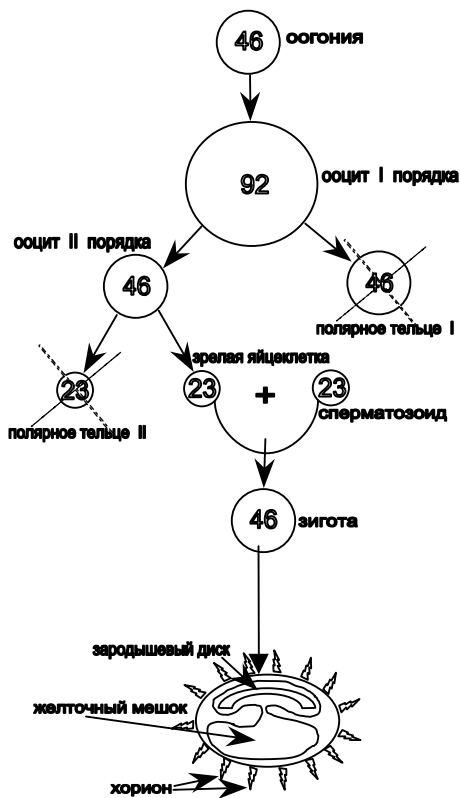


Рис. 1. Схема оплодотворения и формирования зародыша и внезародышевых структур (современное представление)

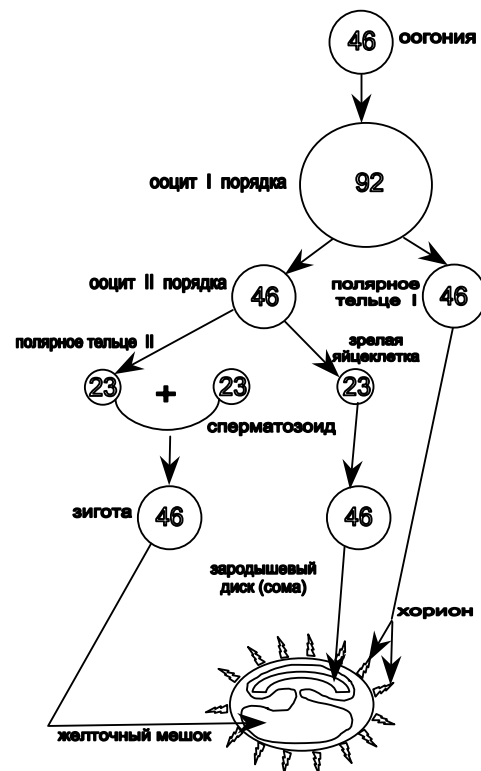


Рис. 2. Схема оплодотворения и формирования зародыша и внезародышевых структур (представление авторов статьи)

дальнейшее развитие зародыша и внезародышевых структур (хорион, желточный мешок) из одной оплодотворенной яйцеклетки.

Вернемся снова к началу процесса оплодотворения, к исчезающим полярным тельцам и попытаемся выяснить, какие функции они могли бы выполнять в развивающемся организме. Первое полярное тельце, содержащее диплоидный набор хромосом, развивается в трофобласт, а в дальнейшем – в хорион, по хромосомному набору он не содержит антигенов, чужеродных крови матери, что и позволяет ему беспрепятственно развиваться в плаценту по мере развития в ней сосудов плода.

Второе полярное тельце с гаплоидным набором хромосом оплодотворяется сперматозоидом и в дальнейшем развивается в желточный мешок, который становится органом кроветворения и гаметообразования на ранних стадиях эмбрионального развития. Все дальнейшее развитие эмбриона зависит от кроветворной способности желточного мешка. Половые клетки, образовавшиеся и мигрирующие по кроветворной системе «желточный мешок – эмбрион», после развития в гонадах определяют пол плода. Таким образом, первичные половые и кроветворные клетки несут в своем ядре идентичный набор хромосом.

Зрелая же яйцеклетка с гаплоидным набором хромосом сперматозоидом не оплодотворяется, а лишь активируется им для дальнейшего развития. Ее производные – экто-, эндо- и мезодерма – развиваются способом естественного партеногенеза, чем и обусловлен «нейтральный» (точнее – женский) тип развития на ранних стадиях эмбриогенеза [4].

В свете проведенных нами исследований считаем, что организм человека, являясь единым целым, состоит из двух генетически неоднородных систем, развивающихся из различных частей ядра яйцеклетки:

- кроветворной и гаметогенной систем, образующихся в желточном мешке, который формируется из оплодотворенного сперматозоидом второго полярного тельца. Функции желточного мешка прекращаются на ранних стадиях эмбриогенеза после миграции из него в эмбрион стволовых кроветворных и половых клеток. Пол плода зависит от генетического строения именно этой системы;

- соматической системы, формирующейся из партеногенетически развивающейся «зрелой» яйцеклетки и содержащей женский набор хромосом.

Отмирающая после рождения плода система «хорион – плацента», развивается из первого полярного тельца и по набору хромосом также относится к женскому типу строения.

Изложенное нами представление о путях возникновения зародыша и внезародышевых структур схематически изображено на рис. 1 и 2.

Наш взгляд на эмбриогенез человека:

- позволяет научно подойти к вопросу о возможности и необходимости клонирования человека;

- решает проблему места образования стволовых клеток в эмбрионе – только желточный мешок;

- способствует решению вопросов, связанных с новообразованиями в организме, обосновывая теорию соматического эмбриогенеза;

- создает предпосылки для решения проблемы этиологии и патогенеза аутоиммунных заболеваний.

Summary

V.M. Galkov, N.V. Galkova, T.M. Agljamova. The concept of human early embryogenesis.

In light of the researches carried, we proposed, that a human organism, being a single whole, consists of two genetically heterogeneous systems developing from various parts of a ovule nucleus: hematopoietic and gametogenic systems formed in a yolk-sac which is formed from fertilized cells, second polar body. Functions of a yolk sac stop at early stages embryogenesis after migration from primitive blood and sexual cells in to an embryo. The floor of a fruit depends on a genetic structure of this system. The somatic system formed from parthenogenetic developing “mature” ovule and containing the developing “mature” female set of chromosomes. Dying off after a birth of a fruit system “chorion-placenta” develops from first polar body and on a set of chromosomes also refers to female type of a structure.

Литература

1. Данилов Р.К., Боровая Т.Г. Общая и медицинская эмбриология. – СПб.: Спецлит, 2003. – С. 124–125, 146, 150.

2. *Дондуа А.К.* Биология развития: в 2 т. – СПб.: Изд-во С.-Петербур. ун-та, 2005. – Т. 1 – С. 52, 55; Т. 2 – С. 181–184.
3. *Корочкин Л.И (ред.)* Геном, клонирование, происхождение человека. Век-2. Фрязино, 2004. – 224 с.
4. *Голиченков В.А., Иванова Е.А., Никерякова Е.Н.* Эмбриология. – М.: Изд. центр «Академия», 2004. – 164 с.

Поступила в редакцию
11.01.07

Галков Владимир Михайлович – заведующий гинекологическим отделением Республиканской клинической больницы Минздрава Республики Татарстан (г. Казань).

Галкова Наталья Владимировна – кандидат медицинских наук, врач гинекологического отделения Республиканской клинической больницы Минздрава Республики Татарстан (г. Казань).

Аглямова Тамара Михайловна – врач анестезиологического отделения Республиканской клинической больницы Минздрава Республики Татарстан (г. Казань).