

УДК 611.013.12:576.536

## СОСТАВ СОМАТИЧЕСКИХ И ПОЛОВЫХ КЛЕТОК ГОНАД ЧЕЛОВЕКА В ПРЕ- И ПОСТНАТАЛЬНЫЙ ПЕРИОДЫ

© 2019 г. М. И. Штаут<sup>а</sup>, Л. Ф. Курило<sup>а</sup>, \*

<sup>а</sup>ФГБНУ «Медико-генетический научный центр»,  
Россия, 115522, Москва, ул. Москворечье, д. 1

\*E-mail: kurilo@med-gen.ru

Поступила в редакцию 19.03.2018 г.

После доработки 15.05.2018 г.

Принята к публикации 22.05.2018 г.

Для сравнительного анализа хронологии и динамики развития и дифференцировки половых клеток в гонадах человека в пре- и постнатальный периоды проанализирован состав соматических клеток, количество, морфология, особенности состояния хроматина ядер через соотношения стадий митоза и профазы I деления мейоза в сперматоцитах и ооцитах. Гонады до 6 нед. антенатального развития человека относят к индифферентному типу, доля половых клеток (ПК) от суммы соматических и половых клеток в них варьировала от 9.21 до 33.29%. При анализе гистопрепаратов, гонады плодов женского пола 8–9 нед. антенатального развития заметно дифференцированы как яичники. Формирование пула женских половых клеток обеспечивается пролиферацией оогониев (1.96–10.34% митозов) в эмбриогенезе и дегенерацией части их ядер. В развивающихся яичках среди ядер мужских половых клеток антенатальных гонад и гонад новорожденных, ядра на стадиях лептотены профазы I мейоза и на следующих за ней стадиях не выявлены. В гонадах плодов мужского пола 6–11 нед. антенатального развития отмечены половые клетки в митозе, в дегенерации, на стадии прелептотенной конденсации хромосом, в то время как в гистопрепаратах яичек новорожденных и мальчиков грудного возраста не выявлено митозов половых клеток. Важным отличием хронологии дифференцировки гамет, динамики преобразования хроматина в ядрах мужских и женских половых клеток является отсутствие этапа деконденсации хроматина (прохромосом) в прелептотене профазы I мейоза в мужских половых клетках.

*Ключевые слова:* профаза I мейоза, незрелые половые клетки, яички, оогенез, плод, стадия прелептотены, прохромосомы, сперматогенез, эмбрион, яичник

DOI: 10.1134/S047514501902006X

### ВВЕДЕНИЕ

У эмбрионов млекопитающих первичные половые клетки (ППК) формируются из клеток эпибласта (Кожухарь, 2011), т.е. вне области формирования гонад, куда ППК затем мигрируют (Райцина, 1985). У человека закладка бипотенциальных (индифферентных) гонад происходит на вентральной поверхности мезонефроса на 30-е сут после оплодотворения (Черных, Курило, 2001). При развитии гонад по женскому типу мезонефральные (Вольфовы) протоки в дальнейшем редуцируются, из парамезонефральных (Мюллеровых) протоков формируются маточные трубы, концы которых расширяются в воронки яйцевода, охватывающие яичники (Курило, Макиан, 2010; Афанасьев и соавт., 2012). У эмбрионов мужского пола часть мезонефроса развивается в придаток яичка – эпидидимис.

Существенно различаются как хронология развития мужских и женских половых клеток

(ПК) в гонадах, так и морфологические преобразования хроматина, особенности динамики митоза и мейоза ПК, так и формирующиеся гаметы (Курило, 1985, 2012; Хилькевич, Курило, 1992). В половозрелом периоде, в мужском организме из сперматоцита I деления мейоза после двух делений мейоза (редукционного и эквационного) формируются 4 сперматиды, равноценные по морфологии, равно потенциальные для спермиогенеза, дифференцировки в сперматозоиды. Ооцит I в результате I деления мейоза разделяется на ооцит II и первое полярное тельце (что происходит уже в половозрелом женском организме). В результате II деления мейоза ооцит II разделяется на яйцеклетку с основным количеством (объемом) цитоплазмы и продукт второго деления мейоза – редукционное (второе полярное) тельце, а 1-ое полярное тельце делится на 2 клетки (вторичные полярные тельца). В отличие от мейоза в сперматогенезе (в котором практически все стадии мей-

оза протекают лишь при наступлении полового созревания), в оогенезе стадии профазы I мейоза (прелептотена, лептотена, зиготена, пахитена, диплотена) проходят антенатально и на стадии диктиотены (диплотены) ооциты находятся до периода полового созревания, то есть, метафаза I наступает не сразу после многостадийной профазы I мейоза. Ооциты переходят в специфическую для оогенеза стадию — диктиотену в антенатальном периоде (Богданов, Коломиец, 2007; Курило, 1985, 2012). Лишь в половозрелом организме женщины, за длительной стадией диктиотены, следует формирование кариосферы в ооците полостного фолликула (Курило, 1985, 2012; Курило и соавт., 1983), и лишь затем незадолго до овуляции наступает диакинез, который переходит в метафазу I мейоза (рис. 1), последовательно сменяющуюся анафазой I и телофазой I мейоза, интерфазой без репликации ДНК, короткой профазой II, метафазой II, анафазой II и заканчивается телофазой II мейоза (Курило, 1985, 2012).

В профазе I мейоза происходит рекомбинация наследственного материала. После конъюгации гомологичных родительских хромосом в зиготене и кроссинговера в пахитене, при котором происходит обмен участками (рекомбинация) между гомологичными родительскими (отцовскими и материнскими) хромосомами, каждая ПК получает уникальный геном, отличный от генома того организма, в котором гаметы развивались, ПК становятся антигенно-чужеродными для этого организма (Курило, 2012).

Целью данного исследования являлся сравнительный анализ хронологии, динамики развития и стадий дифференцировки половых клеток в мужских и женских гонадах человека в пре- и постнатальный периоды, а также — состава соматических клеток.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования выполнены на гистологических препаратах, полученных из гонад эмбрионов и плодов человека (табл. 1) после искусственного прерывания и спонтанного прекращения беременности в сроки от 6.5 до 34-х нед. внутриутробного развития человека. Материал собран из архивной коллекции, полученной лабораторией генетики нарушения репродукции ФГБНУ «МГНЦ» в 70–80-ые годы из секционного материала, при проведении медицинских аборт по медицинским показаниям или при спонтанных абортах. Препараты гистологических срезов гонад постнатальных стадий приготовлены из половых желез 11 погибших новорожденных (табл. 2). Гонады извлекали из окружающих тканей через 5–6 ч с момента наступления смерти (секционный материал). Выражаем благодарность за этот предоставленный ма-

териал доктору медицинских наук, профессору А.Ф. Астраханцеву.

После фиксации материала в смеси Буэна готовили гистологические срезы толщиной 6–8 мкм, окрашенные гематоксилином Эрлиха с подкраской 1% эозином.

Проанализированы гистологические срезы от 32 гонад. На серийных срезах гонад (через каждые 6–7 срезов) подсчитывали 250–400 ПК. Для количественного анализа состава клеток (табл. 3) использовали параметры:

Доля (%) всех подсчитанных ПК от суммы ПК и соматических клеток.

Доля (%) ПК на прелептотенной стадии профазы I мейоза от общего числа подсчитанных ПК.

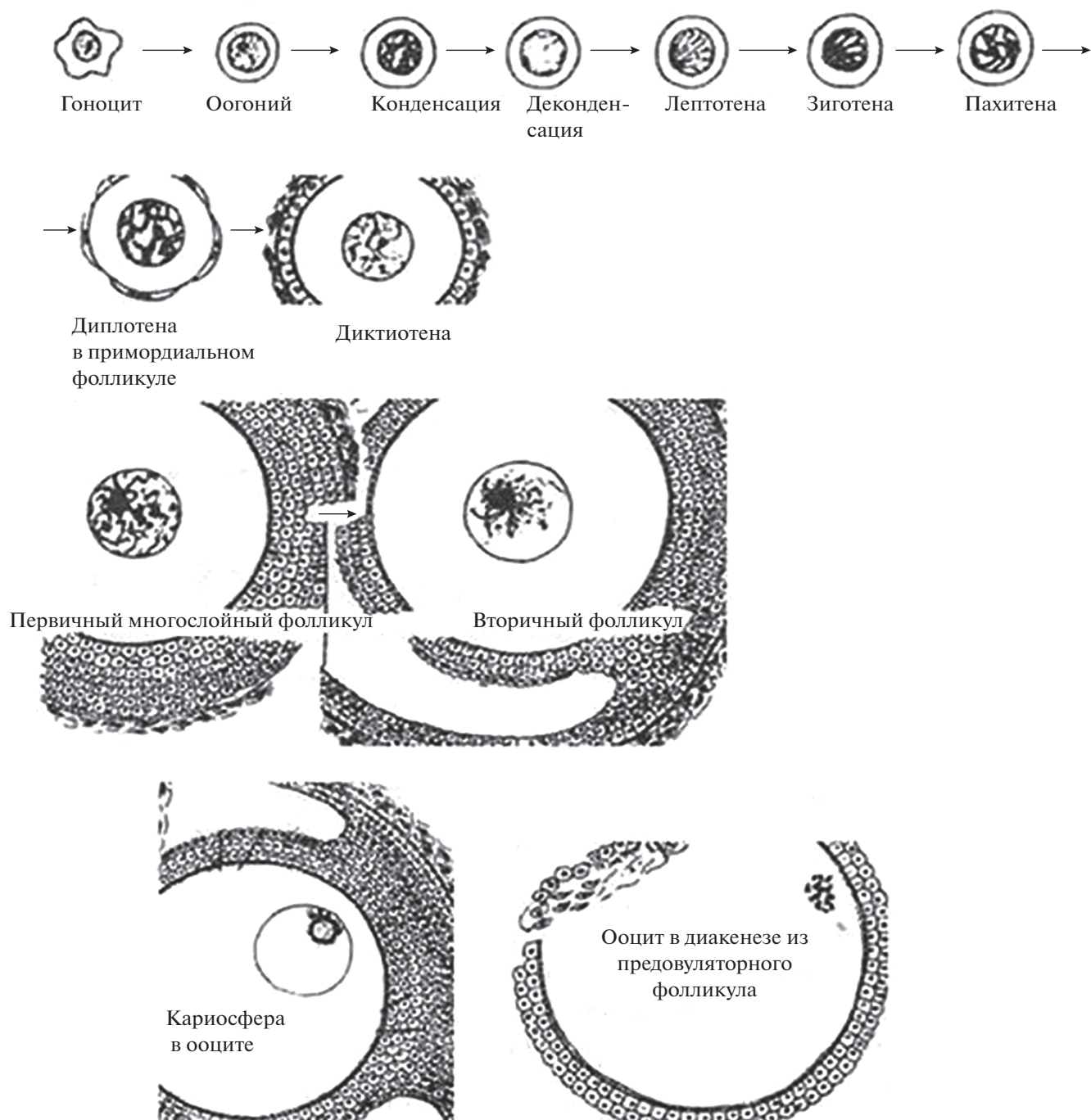
Доля (%) дегенерирующих ПК от общего числа проанализированных ПК.

Доля (%) митотически делящихся ПК от общего числа подсчитанных ПК (Курило, 1985).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Для сравнительного морфологического анализа динамики оогенеза и сперматогенеза исследованы гонады человека на различных стадиях развития. Для человека плодный период (антенатальный этап развития) соответствует возрасту с конца 8 нед. внутриутробного развития до рождения плода (Заварзин, 1939; Vodemer, 1968; Patten, 1976; England, 1985; Курило, 1998). При проведении данного исследования антенатальное развитие гонад человека поделено на несколько возрастных условных групп, с учетом морфогенетических и функциональных особенностей гонад у эмбрионов и плодов женского и мужского пола:

- индифферентные гонады;
- гонады от эмбрионов и плодов человека женского пола до 18 нед. после оплодотворения;
- гонады плодов женского пола от 18 нед. после оплодотворения. В возрасте около 17 нед. — большая часть ооцитов не окружена фолликулярными клетками, деконденсация хромосом в ооцитах на стадии диктиотены начинается с 17–20 нед. антенатального развития (Курило, 1985, 2012). В процессе интенсивного развития соматических клеток яичника, ооциты оказываются ими окруженными. Далее вокруг ооцитов на стадии диплотены формируются фолликулы из одного слоя уплощенных (веретенновидных) клеток гранулезы, т.е., происходит фолликулообразование, что установлено количественным методом (Курило, 1980б):
- гонады от эмбрионов и плодов человека мужского пола 6–7.5 нед. после оплодотворения (рис. 2);
- после 8 нед. антенатального развития мужского организма заметна дифференцировка предшественников клеток Сертоли в извитых семенных



**Рис. 1.** Схема последовательных этапов оогенеза до и на стадиях профазы I деления мейоза у человека (Курило, 1985).

канальцах (ИСК) эмбрионального типа и предшественников клеток Лейдига (локализованных между ИСК), которые продуцируют половые гормоны (Jirásek et al., 1968; Kilcoynea et al., 2014);

– отдельно выделены (табл. 2) образцы с гонадами постнатальных стадий, приготовленные из половых желез 11 погибших новорожденных (рис. 3, 4, 5).

Характеристика клеточного состава мужских и женских гонад в антенатальный период развития,

в период новорожденности и грудном возрасте отражены в табл. 1 и 2 соответственно. Соотношение соматических и половых клеток гонад существенно различалась как в зависимости от пола и возраста внутриутробного и постнатального развития, так и между образцами в пределах групп по возрасту и полу (табл. 3).

Доля ПК от суммы подсчитанных (соматических и половых) клеток в гонадах ранних сроков

**Таблица 1.** Состав соматических и половых клеток в гонадах эмбрионов и плодов человека женского и мужского пола

№ препарата	ПК/сумма соматических клеток и ПК, %	Митозы/сумма ПК %	Прелептитенная стадия в ядрах ПК/сумма ПК, %	ПК в состоянии дегенерации/сумма ПК, %
Индифферентные гонады ( $n = 5$ )				
193	10.99	4.60	5.02	5.86
196	9.21	7.55	6.60	8.49
270	9.54	9.02	6.57	2.91
280	33.29	7.09	16.79	17.54
248	10.99	3.17	4.76	3.17
Гонады эмбрионов и плодов женского пола от 18 недель после оплодотворения ( $n = 3$ )				
173	6.76	8.33	8.33	4.17
237	15.14	9.01	0.90	0.90
210	2.10	5.26	5.26	5.26
Гонады плодов женского пола после 18 недель после оплодотворения ( $n = 4$ )				
312	14.01	10.34	3.45	22.41
27	15.27	1.96	5.88	1.96
20	12.10	3.81	13.33	4.76
311	5.92	2.22	2.22	4.44
Гонады эмбрионов мужского пола 6.0–7.5 недель ( $n = 4$ )				
232	16.67	2.38	2.38	2.38
4	9.51	0.63	4.43	12.03
6	12.05	0.51	2.53	0.51
11	12.63	1.55	2.33	10.08
Гонады плодов мужского пола после 8 недель антенатального развития ( $n = 5$ )				
274	16.18	10.00	2.00	8.00
289	6.19	13.24	1.83	9.13
89	17.57	1.67	3.33	2.5
13 к	13.12	1.99	4.55	2.84
13 ч	8.62	1.45	18.84	5.80

**Таблица 2.** Состав соматических и половых клеток в гонадах новорожденных мальчиков и мальчиков грудного возраста ( $n = 11$ )

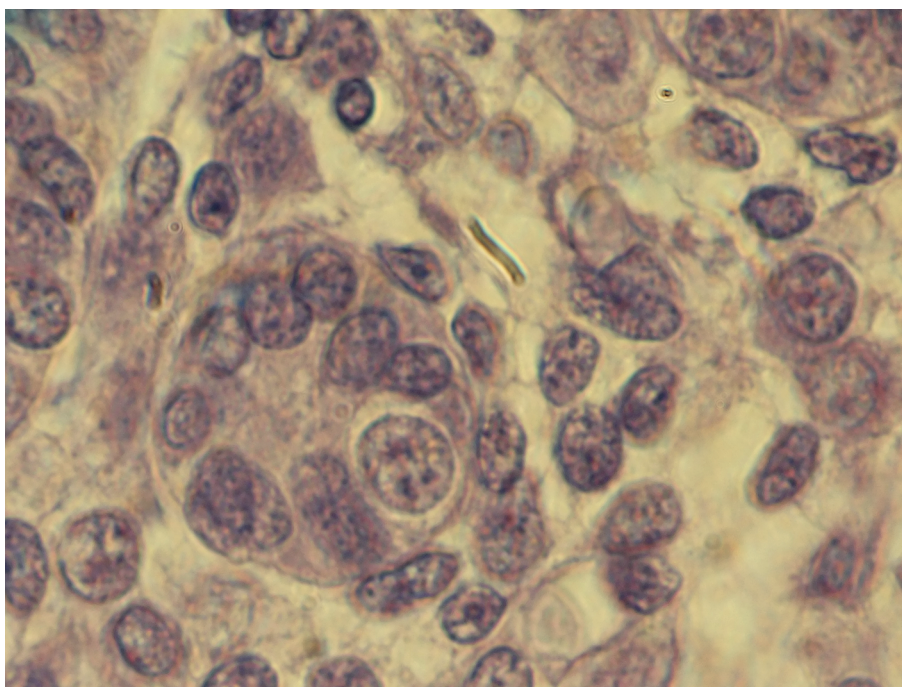
№ препарата, возраст	ПК/сумма соматических клеток и ПК, %	Прелептитенная стадия в ядрах ПК/сумма ПК, %	ПК в состоянии дегенерации/сумма ПК, %
1, 1 сутки	9.73	3.02	13.35
2, 1 сутки	10.25	7.54	3.93
3, 2 суток	9.81	0.00	13.51
4, 2 суток	8.25	3.39	35.59
5, 5 суток	5.71	0.00	64.52
6, 1 месяц	11.76	15.22	5.80
7, 2 месяца	11.59	2.31	11.55
8, 2 месяца	9.84	1.32	10.53
9, 6 месяцев	8.67	5.56	9.72
10, 7 месяцев	12.94	23.01	7.96
11, 7.5 месяцев	15.12	9.27	1.32

**Таблица 3.** Количественная характеристика состава соматических и половых клеток в гонадах эмбрионов и плодов человека женского и мужского пола, а также новорожденных мальчиков

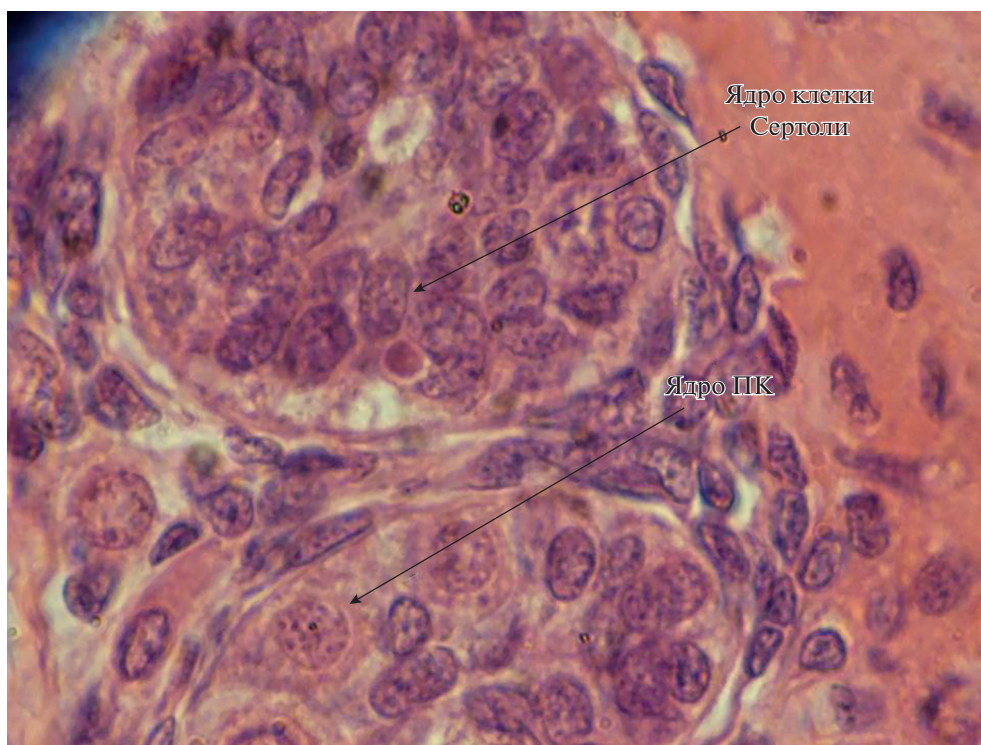
Группы по возрасту и полу	ПК/сумма соматических клеток и ПК, %	Митозы/сумма ПК, %	Прелептотенная стадия в ядрах ПК/сумма ПК, %	ПК в состоянии дегенерации/сумма ПК, %
Индифферентные гонады ( $n = 5$ )	$14.80 \pm 10.37$ (9.21–33.29)	$6.23 \pm 2.34$ (3.17–9.02)	$7.95 \pm 5.02$ (4.76–16.79)	$7.59 \pm 6.01$ (2.91–17.54)
Гонады эмбрионов и плодов женского пола до 18 недель после оплодотворения ( $n = 3$ )	$8.00 \pm 6.61$ (2.1–15.14)	$7.53 \pm 1.99$ (5.26–8.33)	$7.55 \pm 5.15$ (0.90–8.33)	$3.44 \pm 2.27$ (0.90–5.26)
Гонады плодов женского пола с 18 недель после оплодотворения ( $n = 4$ )	$11.83 \pm 4.15$ (5.92–15.27)	$4.58 \pm 3.92$ (1.96–10.34)	$4.93 \pm 3.75$ (2.22–13.33)	$8.39 \pm 9.43$ (1.96–22.41)
Гонады эмбрионов мужского пола 6.0–7.5 недель ( $n = 4$ )	$12.72 \pm 2.96$ (9.51–16.67)	$1.27 \pm 0.88$ (0.51–2.38)	$2.92 \pm 1.01$ (2.33–4.43)	$6.25 \pm 5.66$ (0.51–12.03)
Гонады плодов после 8 недель мужского пола ( $n = 5$ )	$12.33 \pm 4.86$ (6.19–17.57)	$5.67 \pm 5.55$ (1.67–13.24)	$6.11 \pm 7.20$ (1.83–18.84)	$5.65 \pm 2.98$ (2.50–9.13)
Гонады новорожденных мальчиков и грудного возраста ( $n = 11$ )	$10.33 \pm 2.50$ (5.71–15.12)	–	$6.42 \pm 7.14$ (0.00–23.01)	$16.16 \pm 18.36$ (1.32–64.52)

варьировала от 9.21 до 33.29% (табл. 3). В период до 6 нед. беременности по морфологической структуре гонад невозможно однозначно дифференцировать пол развивающегося организма, так как соматические клетки не вступили в половую дифференцировку (рис. 6). Среди ПК отмечены митозы, дегенерирующие ПК, гаметы с прелептотенной конденсацией хромосом – в индифферентных гонадах.

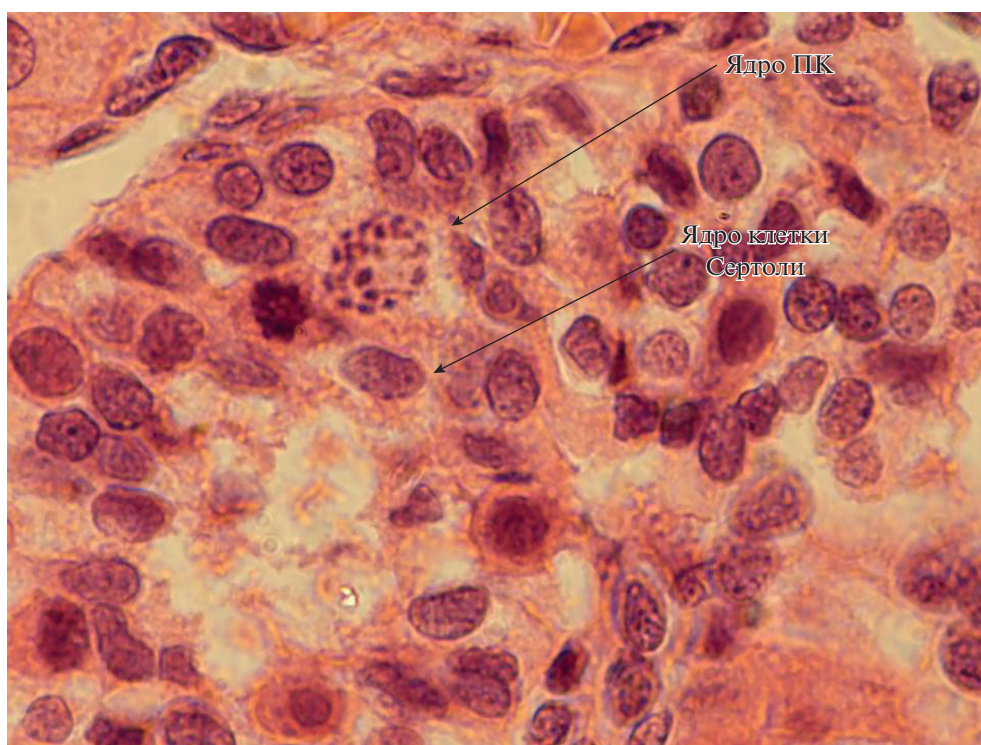
Гистопрепараты гонад плодов женского пола 8–9 нед. антенатального развития заметно дифференцированы по женскому типу, благодаря формированию первых фолликулярных клеток, окружающих ПК; после 18 нед. антенатального развития ПК представлены оогониями, ооцитами на стадии прелептотены, лептотены, зиготены, пахитены, диплотены профазы I мейоза. Формирование пула женских ПК обеспечивается проли-



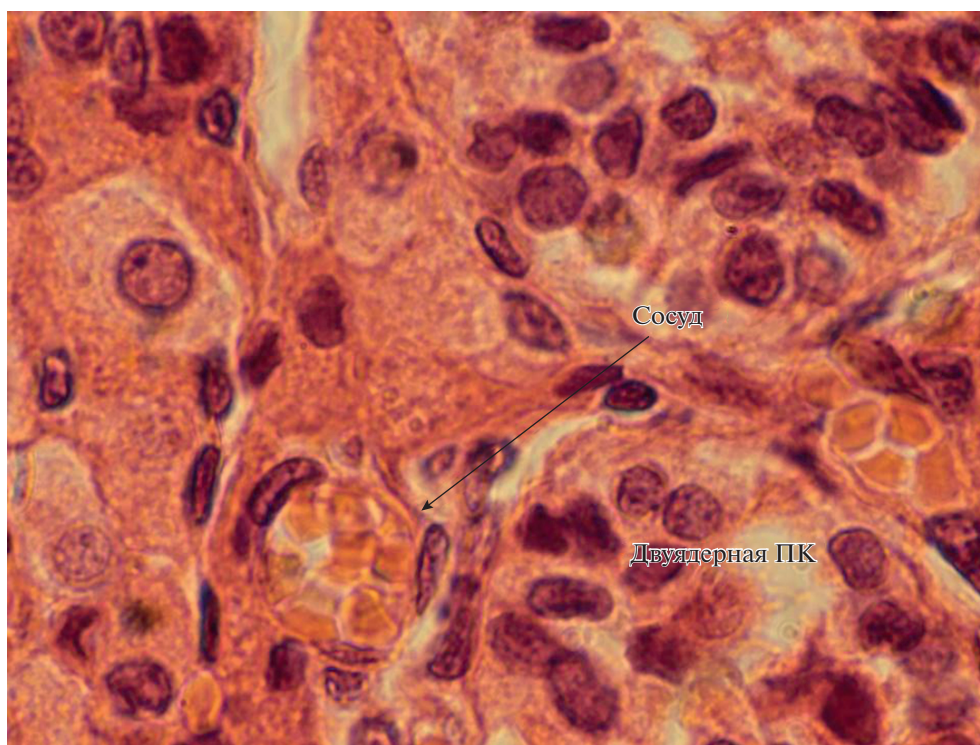
**Рис. 2.** Фрагмент мужской гонады эмбриона человека 7 нед. после оплодотворения. На поперечном срезе эмбрионального семенного канальца – среди ядер клеток Сертоли крупное ядро ПК. Увеличение  $\times 1000$ .



**Рис. 3.** Фрагмент гистопрепарата яичка новорожденного. Поперечные срезы семенного канальца с началом формирования просвета в канальце. Увеличение  $\times 1000$ .



**Рис. 4.** Срез семенного канальца эмбрионального типа яичка новорожденного (1 сутки после рождения). ПК с пре-лептонемной конденсацией хроматина в ядре. Увеличение  $\times 1000$ .



**Рис. 5.** Фрагмент семенного канальца новорожденного мальчика. Дифференцировка гамет сопровождается формированием двуядерной мужской половой клетки. Увеличение  $\times 1000$ .

ферацией оогониев (1.96–10.34% митозов) в эмбриогенезе и дегенерацией ПК разных стадий дифференцировки. Среди ядер мужских ПК (антенатальных гонад и гонад новорожденных) ядер на стадиях лептотены профазы I деления мейоза и на следующих за ней стадиях не выявлено.

В популяциях мужских ПК в группе эмбрионов 6.0–7.5 нед. после оплодотворения отмечены ПК в митозе, в дегенерации, на стадии прелептонной конденсации (рис. 7) хромосом в яичках эмбрионального типа – 2.92% ( $\pm 1.01\%$ ) ПК.

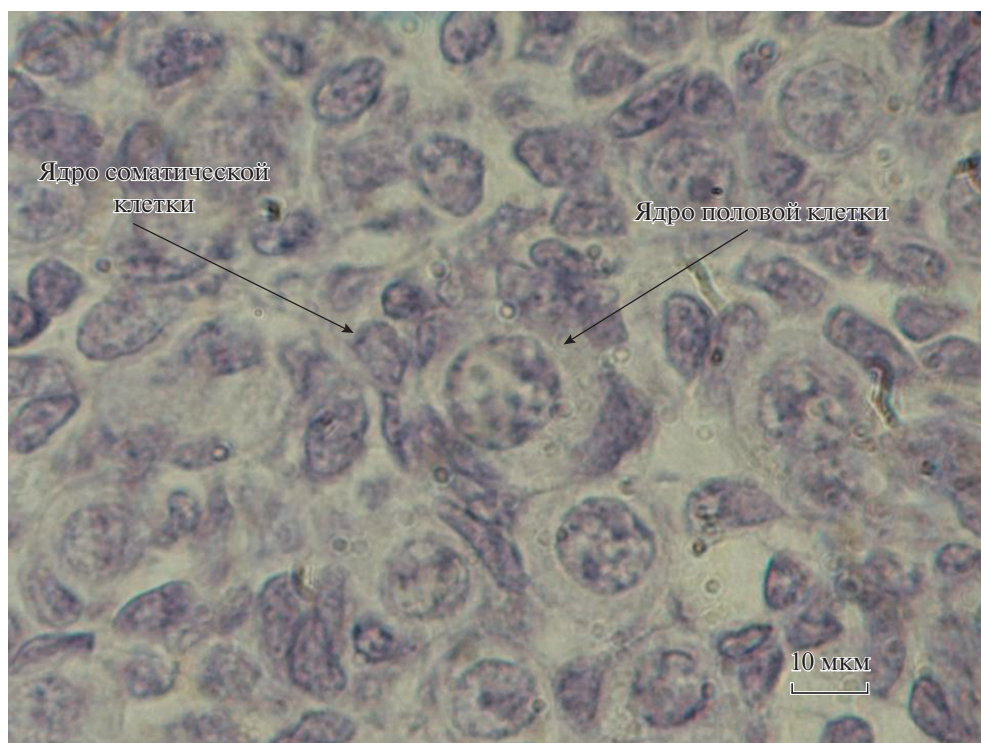
На гистопрепаратах гонад плодов мужского пола 9–11 нед. антенатального развития отмечены ПК на тех же стадиях развития (рис. 8), в то время как на гистопрепаратах яичек новорожденных и мальчиков грудного возраста не встречено митозов ПК. Подчеркиваем, что у человека до наступления полового созревания мужские ПК не переходят к лептотене профазы I мейоза (в популяциях мужских ПК в семенных канальцах), и при этом некоторые исследователи сообщали об обнаружении ядер на стадии прелептонной конденсации хромосом в антенатальных яичках (Luciani et al., 1977; Хилькевич, Курило, 1992) и в яичках новорожденных мальчиков (по нашим наблюдениям, табл. 3).

В гонаде, развивающейся по женскому типу (рис. 9), характерное для яичника гистологическое строение начинает формироваться пример-

но с 8 нед. беременности, то есть немного позднее, чем в яичке. Мигрировавшие в зачатки гонад ППК индуцируют пролиферацию клеток мезенхимы (Радзинский, 2005). В развивающемся яичнике вокруг ПК локализуются прегранулезные соматические клетки, участвующие позднее в формировании фолликула и в дальнейшем – его полости, и другие типы соматических клеток стромы яичника.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Гаметы (как женские, так и мужские) проходят генетические процессы, уникальные для ПК: конъюгацию (слияние гомологичных родительских хромосом в зиготене) и кроссинговер (обмен участками хромосом между гомологичными родительскими хромосомами, в пахитене профазы I мейоза), реализации двух делений мейоза при однократном синтезе ДНК перед лептотеной (Гапиченко, Маркелова, 1976). Данные процессы происходят в женском организме – антенатально, в мужском – постнатально, с наступлением полового созревания. Ремоделирование хромосом в ПК перед мейозом начинается на стадии прелептонной с формированием структур прохромосом (Luciani et al., 1977; Хилькевич, Курило, 1992). Структуры представляют собой волокна, конденсирующие-



**Рис. 6.** Фрагмент гистопрепаратов гонад человека в антенатальном периоде, у эмбриона 6–7 нед. после оплодотворения. Увеличение  $\times 1000$ .

ся вокруг хромоцентров из центромерного гетерохроматина (Вильсон, 1936).

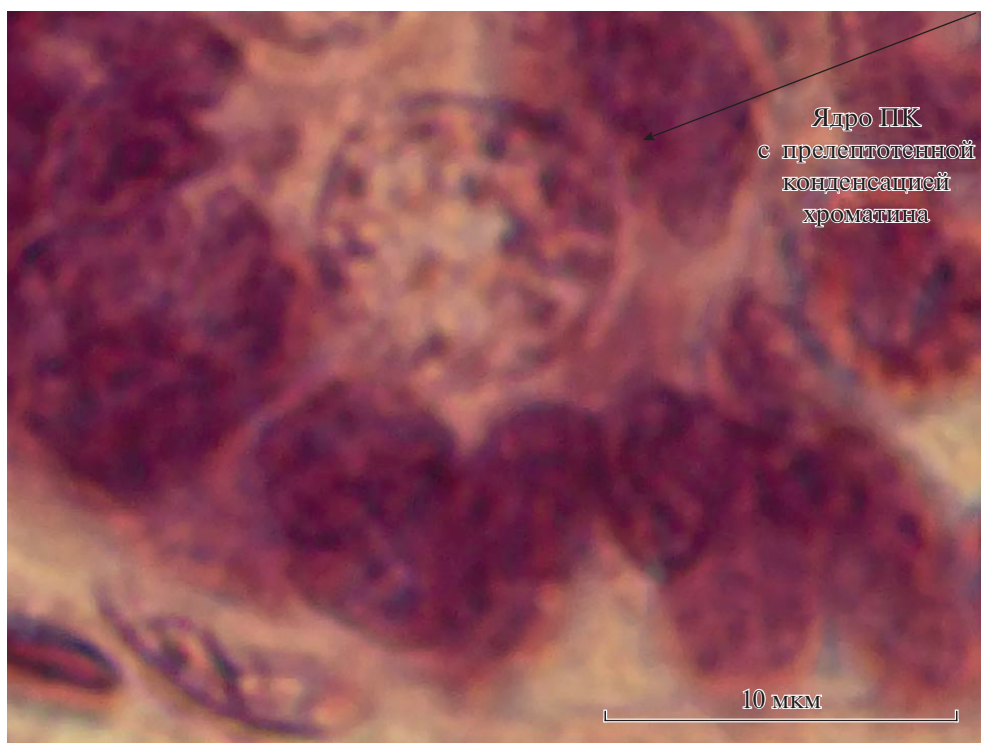
Существенным отличием динамики изменения хроматина в ядрах мужских ПК от хроматина в ядрах женских ПК (рис. 9) является отсутствие этапа деконденсации хроматина (прохромосом) во время прелептотены в ядрах ПК неонатального яичка, который в женских ПК приводит к формированию хромосом в нитевидные на стадии лептотены. Кроме того, степень конденсации в мужских ПК (рис. 7) не достигает максимальной степени, характерной для женских ПК (Luciani et al., 1977). На разных сроках антенатального периода развития человека в семенных канальцах ранее было выявлено, что от 2 до 14% ядер мужских ПК находятся на прелептотенной стадии конденсации хроматина в прохромосомы (Хилькевич, Курило, 1992), и не отмечено наличия мужских ПК на этапе деконденсации прохромосом. Не выявлено существенных изменений в частоте гамет на стадии прохромосом на гистопрепаратах яичек эмбрионов и плодов, анализируемых в данной работе, по сравнению с этими показателями, установленными нами на гистопрепаратах яичек новорожденных (табл. 3).

Оогонии на протяжении всего периода пренатального онтогенеза дифференцируются в ооциты I-го порядка. Как установлено нами в данном исследовании, с повышением возраста эмбриона

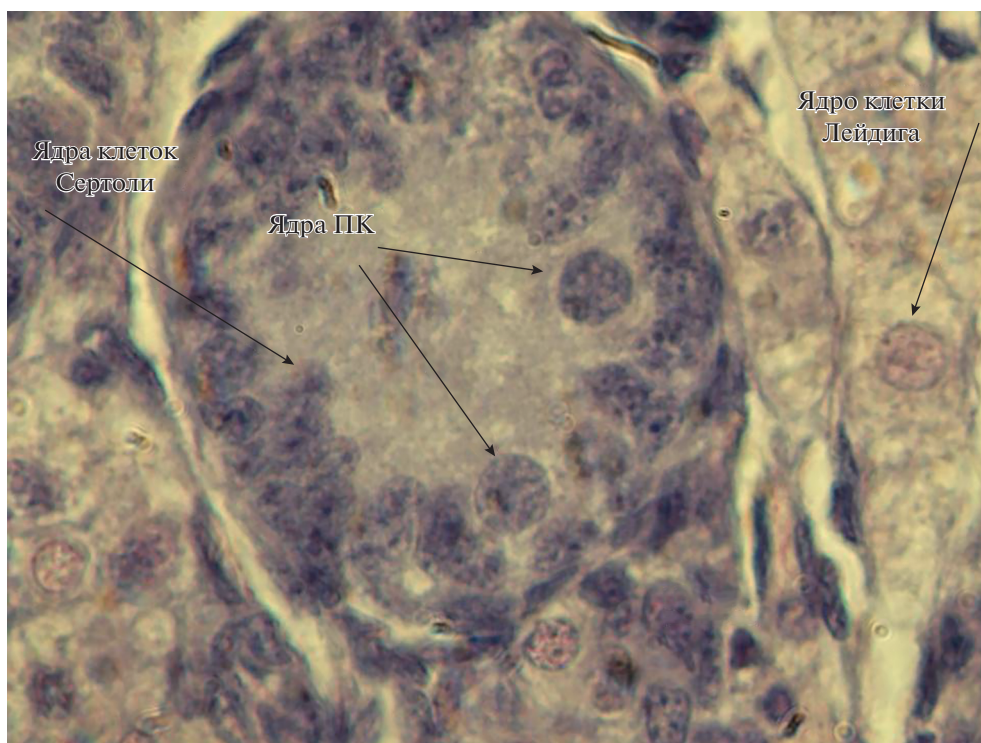
и плода и увеличением размера яичников, формирование пула ПК обеспечивается активной пролиферацией оогониев (1.96–10.34% митозов) во время антенатального развития и дегенерацией ПК разных стадий (достигая 5.26% – до 18 нед. после оплодотворения, и 22.41% на более позднем сроке). К моменту рождения у девочки формируется пул ПК в профазе I мейоза на стадии диктиотены (которая может длиться десятки лет). Общее число ПК у плода человека женского пола по данным разных исследователей варьирует от 2 до 7 млн (Block, 1951; Baker, 1963; Byskov, 1979; Gougeon, Chainey, 1987; Richardson et al., 1987; Bendtsen et al., 2006; Forabosco, Sforza, 2007; Hansen et al., 2007).

У человека начало дифференцировки гонад по мужскому типу возможно проследить с более раннего срока антенатального развития (рис. 2), чем женской гонады. В табл. 3 указаны частота (в %) ядер ПК и соматических клеток, иллюстрирующие количественные показатели в развитии. Как отмечено в данном исследовании, в развивающихся яичках из мезенхимы мезонефроса формируются соматические клетки Сертоли, выстилающие извитые семенные канальцы (ИСК) эмбрионального типа. Позднее, примерно после 9 нед. внутриутробного развития, появляются соматические интерстициальные клетки – предше-

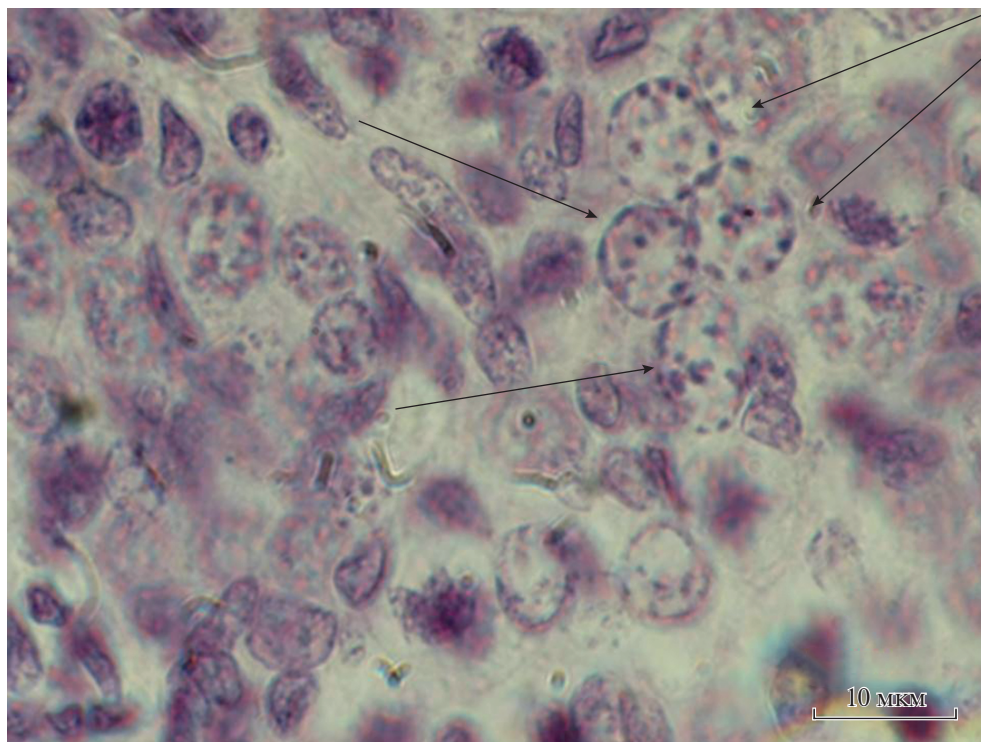




**Рис. 7.** Гонада мальчика 7 мес. Стрелкой показано ядро ПК с прелептотенной конденсацией хроматина, окруженное ядрами клеток Сертоли. Увеличение  $\times 1000$ .



**Рис. 8.** Гонада плода человека мужского пола 11 нед. после оплодотворения. Поперечный срез: семенной каналец окружен предшественниками клеток Лейдига (формирующимися к 9 нед. после оплодотворения у человека), ядра клеток Сертоли, крупные округлые ядра сперматогониев. Увеличение  $\times 1000$ .



**Рис. 9.** Фрагмент гистопрепаратов, развивающихся по женскому типу, гонад человека в антенатальном периоде, 8 нед. после оплодотворения. Стрелками показаны половые клетки. Увеличение  $\times 1000$ .

стенники клеток Лейдига, локализованные между ИСК.

На 6–7-й нед. у эмбрионов человека будущие женские гонады (рис. 6) еще сохраняют индифферентную структуру (Фалин, 1968; Курило, 1980а, 1985; Kurilo, 1981). Между соматическими клетками в гонадах эмбрионов мужского пола на сроке 6–7 нед. после оплодотворения (рис. 2) располагаются постмиграторные ППК (Кожухарь, 2011). В гонадах эмбрионов мужского пола на этих сроках происходит активация экспрессии гена *SRY*, которая индуцирует каскад изменений экспрессии различных генов, приводящий к морфологической дифференцировке гонады по мужскому типу (Черных, Курило, 2001; Кожухарь, 2012).

На процессы гаметогенеза существенное влияние оказывает клеточное окружение, в котором развиваются половые клетки (рис. 6). Мужская и женская гонады отделены от кровеносной системы физиологическими барьерами: гемато-тестикулярный барьер (ГТБ), и гемато-фолликулярный барьер (ГФБ) (Курило, 2012). ГТБ выполняет функции иммунной защиты мужских ПК, защиты от мутагенов (Райцина, Давыдова, 1973) и от проникновения сывороточных белков и некоторых других молекул и химических соединений из крови. Из крови через барьеры проникают гормоны. В течении репродуктивной жизни в мужском организме происходит самообновление ГТБ. Во-

круг мужских ПК формирование ГТБ активизируется с наступлением пубертатного периода, у млекопитающих его становление совпадает с появлением просвета в семенных канальцах (Бурнашева и соавт., 1982).

Плод женского пола рождается со сформированными ГФБ и пулом женских ПК. Обсуждая формирование ГТБ и ГФБ, можно предположить причину становления этих структур – как необходимую функцию для изоляции (при беременности) антигенно-чужеродных ПК для материнского организма (Райцина, Давыдова, 1973; Курило, 2012). Начало формирования ГТБ и ГФБ соответствует окончанию стадии пахитены в I делении мейоза: в антенатальном развитии женского организма и в постнатальном периоде в мужском.

Для человека в большинстве исследований показано, что в мужских ПК только после 4-х лет постнатальной жизни возобновляются единичные митозы (Астраханцев, 1996). По достижении периода половой зрелости количество митозов ПК значительно возрастает. В яичках новорожденных мальчиков (и в плодах мужского пола) обнаружены ядра на стадии прелептотенной конденсации хромосом в антенатальных яичках. Предполагают, что клетки, хромосомы ядер которых достигли конденсации, способны или возвращаться к митозу или переходить к апоптозу (Luciani et al., 1977). В литературе практически не

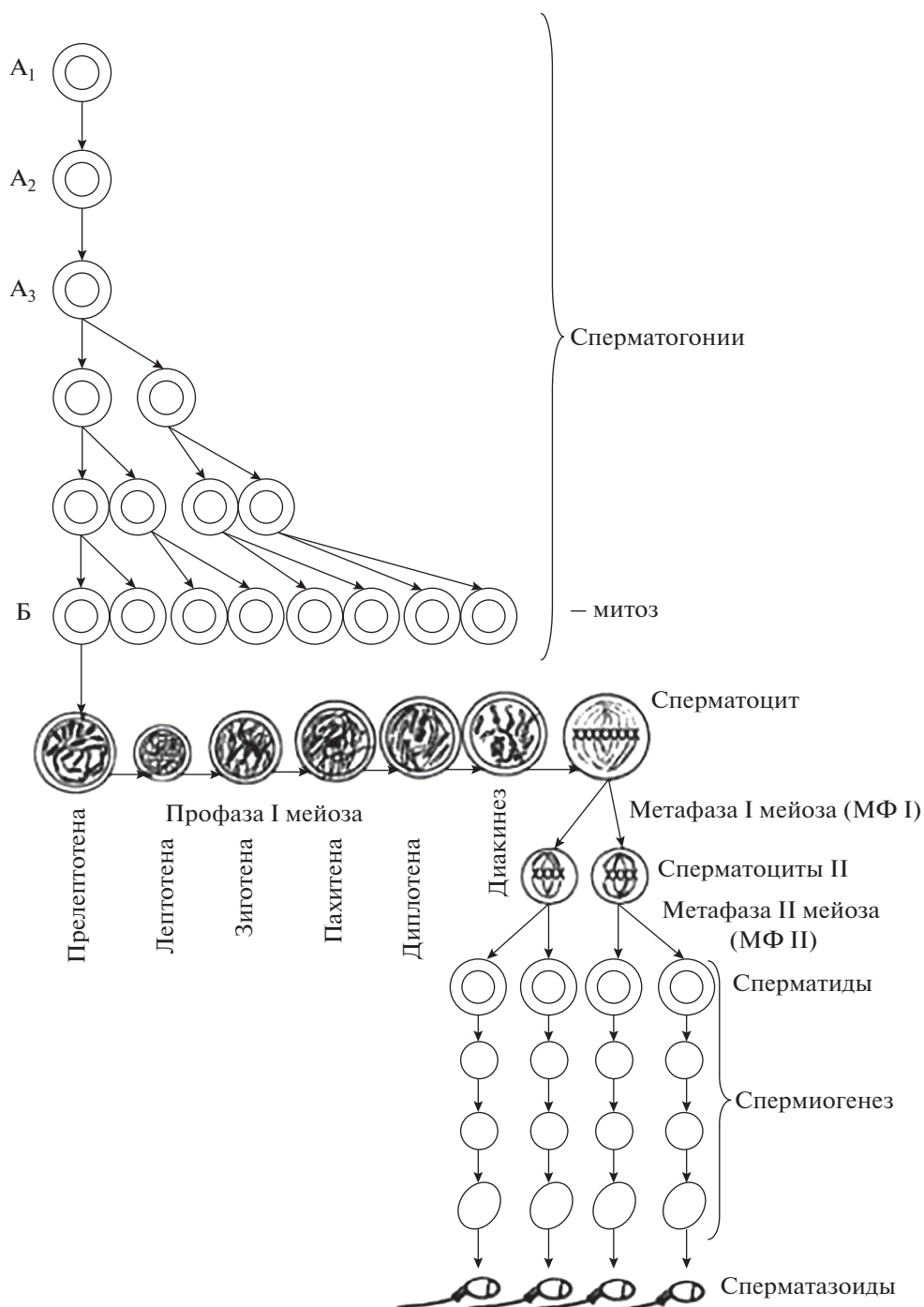


Рис. 10. Схема сперматогенеза человека и млекопитающих животных (Курило, 1989).

обсуждают роль стадии конденсации прелептитенных хромосом в прохромосомы (Курило, 2012). Консервативные для млекопитающих животных, механизмы пролиферации и апоптоза обеспечивают формирование пула ПК (Koubova et al., 2014), что было показано на модельных животных (мышях).

Гены-репрессоры мужского мейоза в ПК найдены в исследованиях на мышах (Vanhoutteghem et al., 2014). Ввиду консервативности гена *bnc2* мыши (контролирующего продукцию и функции белка базонуклеина 2, *bnc2*), для данного гена предполагают репрессию мейоза у млекопитающих животных и человека. В эмбриональных яичках млекопи-

тающих мейоз блокируется действием нескольких белков, среди которых *stra8* (консервативный белок, имеющийся, в том числе, у человека — STRA8). Небольшое количество мужских ПК, вступивших в профазу I мейоза, находят у мышей до дифференцировки ПК в гонаде: большая часть ППК, не достигших гонады во время миграции, подвергается апоптозу, однако немногие ПК, вступают в профазу I мейоза, что обусловлено действием на них вырабатываемой в эмбриональных надпочечниках ретиноевой кислоты (РК) (Koubova et al., 2014). Показано, что деградация РК предотвращает синтез *stra8* и, таким образом, останавливает инициирование вхождения сперматогониев в мейотическое деление (Maclean et al., 2007).

У человека максимальные значения количества ПК прелептотенных стадий в гонаде характерны для 10–11 недельного плода (рис. 8) мужского пола (Хилькевич, Курило, 1992; Курило, Штаут, 2015; Штаут, 2016). Установлено нами, что ПК с прохромосомной конденсацией хроматина сохраняются и у новорожденных мальчиков (табл. 2), с различными (индивидуальными) показателями частоты (табл. 3). Относительно причин прелептотенных преобразований хроматина в яичках до наступления полового созревания, некоторые исследователи предполагают, что их появление в этом возрасте можно соотносить с недостатком сигнальных молекул развития по мужскому типу у небольшого количества ПК, не подвергшихся блоку мейоза (Bowles, 2006; Maclean et al., 2007; Koubova et al., 2014). Кроме того, полагают, что преждевременное инициирование мейоза может быть вызвано нарушением формирования компонентов ГТБ. Иные нарушения дифференцировки гамет могут быть зафиксированы и на других уровнях (цитологическом, гистологическом), например, могут сопровождаться формированием двуядерных мужских ПК, что мы отмечали в наших исследованиях (рис. 5).

На разных стадиях дифференцировки ПК (рис. 10) мужского организма уровень метилирования низкий (La Salle, Trasler, 2006). Родительское метилирование стирается в ППК во время их миграции к гонадным валикам эмбриона (Wu, Zhang, 2010), а метилирование *de novo* в мужских ПК происходит на поздних стадиях их созревания (Lucifero et al., 2002; La Salle, Trasler, 2006). Фрагментарны исследования о том, какие эпигенетические события происходят в гаметогенезе на стадии прелептотены профазы I в мужских и женских гаметах. Уровень метилирования резко растет со стадии сперматогониев В, достигая максимума к пахитене I деления мейоза (La Salle, Trasler, 2006), то есть согласно приведенному авторами графику на стадии прелептотены начинается рост метилирования ДНК. Конденсация хроматина сопровождается действием некодирующих РНК, с

быстрой их деградацией и модификациями в гистонах.

В оогенезе на стадии прелептотены профазы I мейоза уровень метилирования низкий, активность DNMT отсутствует. В ППК женского организма, в ПК на всех стадиях мейоза I, в том числе на длительной диктиотене, в диакинезе, то есть, до овуляции, на стадии метафазы I уровень метилирования в ПК низкий. Уровень метилирования в ооците достигает максимума к метафазе II деления мейоза (к моменту овуляции). Затем уже после оплодотворения специфическое метилирование женского пронуклеуса стирается после 3 деления дробления (Lucifero et al., 2007).

Развитие элементов соединительной ткани, окружающих ПК, количество и морфология самих ПК до вступления их в мейоз и на стадиях профазы I деления мейоза, помимо различия биологических событий (по хронологии и динамике) в материнском и отцовском организмах, отражает подготовку к трансформации наследственного материала дифференцирующихся гамет для последовательного включения в них продуктов различных генов, в том числе, генов, экспрессирующихся на этапах раннего развития эмбриона, что приводит к ступенчатому запуску программы формирования нового организма.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Астраханцев А.Ф. Структура мужских половых желез в постнатальном онтогенезе. Автореферат дис. ... докт. мед. наук. Рязань: Рязан. мед. ин-т им. акад. И.П. Павлова, 1996. 49 с.
- Афанасьев Ю.И., Юрина Н.А., Котовский Е.Ф. Гистология. 5-е изд., перераб. и доп. М.: Медицина, 2002. 744 с.
- Богданов Ю.Ф., Коломиец О.Л. Синаптонемный комплекс — индикатор динамики мейоза и изменчивости хромосом. М.: КМК, 2007. 360 с.
- Бурнашева С.А., Габаева Н.С., Данилова Л.В. Современные проблемы сперматогенеза. М.: Наука, 1982. 260 с.
- Вильсон Э. Клетка и ее роль в развитии и наследственности. М.-Л.: ГИБМЛ, 1936. Т. 1. 212 с.
- Гапиенко Е.Ф., Маркелова И.В. Авторадиографическое исследование ранних этапов женского мейоза человека в органной культуре // Архив анат. 1976. 70(6). С. 30–41.
- Заварзин А.А. Краткое руководство по эмбриологии человека и позвоночных животных. Л.: Наркомздрав, 1939. 204 с.
- Кожухарь В.Г. Первичные половые клетки млекопитающих и человека. Происхождение, идентификация, миграция // Цитология. 2011. Т. 53(3). С. 211–220.
- Кожухарь В. Г. SRY и SOX9 — главные факторы генетической детерминации пола у млекопитающих // Цитология. 2012. Т. 54(5). С. 390–404.
- Курило Л.Ф. Развитие яичника человека в пренатальный период // Архив анат. 1980а. Т. 79(7). С. 73–79.

- Курило Л.Ф. Фолликулогенез в пренатальный период развития человека // Архив анат. 1980б. Т. 79(8). С. 63–69.
- Курило Л.Ф. Морфофункциональные характеристики оогенеза млекопитающих и человека: Дис. ... докт. биол. наук, НИИ биол. развития им. Н.К. Кольцова РАН. М., 1985. 470 с.
- Курило Л.Ф. Возможности цитогенетического исследования мейоза при мужском бесплодии // Цитология и генетика. 1989. Т. 23(2). С. 63–70.
- Курило Л.Ф. Развитие эмбриона человека и некоторые морально-этические проблемы методов вспомогательной репродукции // Проблемы репродукции. 1998. Т. 3. С. 39–49.
- Курило Л.Ф. Закономерности овариогенеза и оогенеза млекопитающих. Deutschland: LAP LAMBERT Academic Publishing, 2012. 282 с.
- Курило Л.Ф., Леонов Б.В., Схиртладзе З.Ш., Игнатьева Е.Л., Хилькевич Л.В. Анализ динамики ядерных преобразований в процессе роста и созревания ооцита человека // Тезисы докладов XIV Всесоюзного съезда акушеров-гинекологов “Актуальные проблемы перинатологии; диагностика женского бесплодия”. Кишинев, Москва, 1983. С. 659–660.
- Курило Л.Ф., Макиян З.Н. Морфогенез половых желез и аномалии их развития (обзор литературы) // Андрология и генитальная хирургия. 2010. Т. 4. С. 14–22.
- Курило Л.Ф., Штаут М.И. Генетические и эпигенетические механизмы регуляции, хронология и динамика сперматогенеза у млекопитающих. // Андрология и генитальная хирургия. 2015. № 1. С. 31–40.
- Радзинский В.Е. Руководство к практическим занятиям по гинекологии. Медицинское информационное агентство, 2005. 520 с.
- Райцина С.С. Сперматогенез и структурные основы его регуляции. М.: Наука, 1985. 208 с.
- Райцина С.С., Давыдова А.И. Гемато-тестикулярный барьер // Успехи современной биологии. 1973. Т. 75(1). С. 104–124.
- Фалин Л.И. Развитие половых желез и происхождение половых клеток в эмбриогенезе человека // Арх. анат., гистол. и эмбриол. 1968. Т. 54(2). С. 2–39.
- Хилькевич Л.В., Курило Л.Ф. Кинетика популяции мужских половых клеток человека в антенатальном периоде онтогенеза // Онтогенез. 1992. Т. 23(5). С. 506–510.
- Черных В.Б., Курило Л.Ф. Генетический контроль дифференцировки пола у человека // Генетика. 2001. Т. 37(10). С. 1317–1329.
- Штаут М.И. Аспекты морфогенетических преобразований хроматина на прелептотенных стадиях сперматогенеза у человека // Андрология и генитальная хирургия. 2016. № 2. С. 104–111.
- Baker T.G. A Quantitative and cytological study of germ cells in human ovaries // Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci. 1963. V. 158. P. 417–433.
- Bendsen E., Byskov A.G., Andersen C.Y., Westergaard L.G. Number of germ cells and somatic cells in human fetal ovaries during the first weeks after sex differentiation // Human Reproduction. 2006. V. 21. P. 30–35.
- Block E. Quantitative morphological investigations of the follicular system in women: variations at different ages // Acta Anatomica. 1951. V. 14. P. 108–123.
- Bodemer Ch.W. Modern embryology. N.Y., 1968. 475 p.
- Bowles J., Knight D., Smith C. et al. Retinoid signaling determines germ cell fate in mice // Science. 2006. V. 312. P. 596–600.
- Byskov A. The anatomy and ultrastructure of the rete system in the fetal mouse ovary // Biol. Reprod. 1978. V. 19(2). P. 720–735.
- England M.A. Farbatlas der Embriologie. Stuttgart-N.Y., 1985. 25 p.
- Forabosco A., Sforza C. Establishment of ovarian reserve: a quantitative morphometric study of the developing human ovary // Fertility and Sterility. 2007. V. 88. P. 675–683.
- Gougeon A., Chainey G. Morphometric studies of small follicles in ovaries of women of different ages // J. Reproduction and Fertility. 1987. V. 8. P. 433–442.
- Hansen K.R., Knowlton N.S., Thyer A.C. et al. A new model of reproductive aging: the decline in ovarian non-growing follicle number from birth to menopause // Human Reproduction 2008. V. 23. P. 699–708.
- Jirásek J.E., Raboch J., Uher J. The relationship between the development of gonads and external genitals in human fetuses // Am. J. Obstet. Gynecol. 1968. V. 101(6). P. 830–833.
- Kilcoynea K.R., Smith L.B., Atanassova N. et al. Fetal programming of adult Leydig cell function by androgenic effects on stem/progenitor cells // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2014. May 6. V. 111(18). E1924–32.
- Koubova J., Yueh-Chiang Hu, Tanmoy Bhattacharyya et al. Retinoic acid activates two pathways required for meiosis in mice // PLoS Genet. 2014. V. 10(8). e1004541. doi 10.1371/journal.pgen.1004541
- Kurilo L.F. Oogenesis in antenatal development in man // Hum. Genet. 1981. V. 57. P. 86–92.
- La Salle S., Trasler J.M. Dynamic expression of DNMT3a and DNMT3b isoforms during male germ cell development in the mouse // Dev. Biol. 2006. V. 296(1). P. 71–82.
- Luciani J.M., Devictor M., Stahl A. Preleptotene chromosome condensation stage in human foetal and neonatal testes // Embryol. exp. Morph. 1977. V. 38. P. 115–186.
- Lucifero D., Mertineit C., Clarke H.J. et al. Methylation dynamics of imprinted genes in mouse germ cells // Genomics. Apr. 2002. V. 79(4). P. 530–538.
- Maclean G., Li H., Metzger D. et al. Apoptotic extinction of germ cells in testes of cyp26b1 knockout mice // Endocrinology. 2007. V. 148. P. 4560–4567.
- Patten B.V. Human Embryology. Re-edition. Maidenhead, McGraw Hill. 1976. 768 p.
- Richardson S.J., Senikas V., Nelson J.F. Follicular depletion during the menopausal transition: evidence for accelerated loss and ultimate exhaustion // J. Clinical Endocrinology and Metabolism. 1987. V. 65. P. 1231–1237.
- 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. Nov. V. 141(22). P. 4298–4310.
- Wu S.C., Zhang Y. Active DNA demethylation: many roads lead to Rome // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2010. V. 11. P. 607–620.

## The Composition of Somatic and Germ Cells in Pre- and Postnatal Human Gonads

M. I. Shtaut<sup>1</sup> and L. F. Kurilo<sup>1, \*</sup>

<sup>1</sup>Research Centre for Medical Genetics (RCMG), Moscow, 115522 Russia

\*E-mail: kurilo@med-gen.ru

Received March 19, 2018; revised May 15, 2018; accepted May 22, 2018

To study the chronology and dynamics of human germ cells development and differentiation in pre- and postnatal gonads we analyzed the composition of somatic cells, their number, and morphology, also as nuclear chromatin organization through the stages ratio of mitosis and prophase I of meiosis in spermatogenesis and oogenesis. Up to 6 weeks of human antenatal gonads were classified as an indifferent, at that the proportion of germ cells/the total of somatic and germ cells was ranged from 9.21 to 33.29%. Histology revealed that gonads of female fetuses of 8–9 weeks of prenatal development have been differentiated into ovaries. In embryogenesis, a pool of female germ cells was owing to the proliferation and degeneration of oogonia (1.96–10.34% of mitoses). In developing male gonads (antenatal testicles and gonads of newborns) among male germ cells, the leptotene prophase I meiosis and at the following stages were not identified. In male fetal gonads of 6 to 11 weeks of gestation, immature germ cells in the mitosis, the degeneration, at the stage of preleptotene condensation of chromosomes were found. While no mitoses of germ cells were revealed in testicles of newborn boys and infants. The principal distinction between the chronology of the differentiation of male and female germ cells, and the dynamics of the transformation of nuclei chromatin is the lack of chromatin decondensation (prochromosomes formation) in spermatocytes at preleptotene of prophase I of meiosis.

*Keywords:* meiosis, immature germ cells, testis, oogenesis, fetus, preleptotene, prochromosome, spermatogenesis, human embryo, ovary