

ЕСТЕСТВЕННАЯ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ИНВЕРСИЯ ПОЛА У ПТИЦ И ДРУГИХ ГРУПП ПОЗВОНОЧНЫХ ЖИВОТНЫХ, КРОМЕ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

© 2022 г. А. Ф. Смирнов¹, Д. Ю. Леоке², А. В. Трухина¹, *

¹Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, 199034 Россия

²Биологическая станция “Рыбачий” Зоологического института Российской академии наук,
Калининградская область, пос. Рыбачий, 238535 Россия

*e-mail: trukhina_ant@mail.ru

Поступила в редакцию 17.08.2021 г.

После доработки 26.12.2021 г.

Принята к публикации 12.01.2022 г.

Статья посвящена актуальной на сегодняшний день проблеме – детерминации пола. По этой проблеме опубликовано множество научных статей, но до сих пор не раскрыты все подробности его механизмов, поскольку они очень разнообразны. В статье обобщен новый материал, полученный при изучении случаев естественной и экспериментальной инверсии пола у позвоночных животных. Рассмотрены представители холоднокровных позвоночных (рыбы, амфибии, рептилии) и теплокровных (птицы). Инверсия пола, которая встречается как в естественных (природных) условиях, так и в условиях эксперимента, может быть следствием генетических нарушений, которые проявляются на ранних стадиях развития эмбриона, и нормальных изменений, происходящих у половозрелых животных под контролем нейроэндокринной системы организма. Предполагается, что инверсия пола и детерминация пола могут быть взаимосвязанными явлениями. Особое внимание в статье уделено инверсии и детерминации пола у птиц, подробно рассмотрены работы по экспериментальной инверсии пола у этих животных. Для этого обобщены данные научных работ о связи между фенотипическим проявлением пола на клеточном, тканевом и органном уровнях, его хромосомным и гормональным определением, а также генетическим и эпигенетическим контролем. В конце статьи предложены перспективные направления в изучении естественной и экспериментальной инверсии пола у позвоночных.

Ключевые слова: детерминация пола, инверсия пола, генетический контроль, эпигенетический контроль, гормональное определение пола, позвоночные.

DOI: 10.31857/S001667582206011X

Пол – это совокупность морфологических, физиологических и нейроэндокринных особенностей организма, обеспечивающих половое размножение, сущность которого сводится к образованию половых клеток (*гамет*), их слиянию при оплодотворении, образованию зиготы и формированию новой особи. С половым размножением связано множество нерешенных проблем. До сих пор обсуждаются его преимущества и недостатки по сравнению с бесполом вариантом размножения, а также их эволюционная связь. Огромное разнообразие вариантов полового размножения и соответствующих им версий определения пола привлекает особое внимание [1].

Различают два типа полового размножения: *облигатный* (у большинства растений и животных) и *факультативный* (у грибов). Говорят о *соматическом поле*, когда речь идет о совокупности клеток многоклеточного организма, исключая

половые клетки, и *гаметном поле*, подразумевая превращение недифференцированных первичных половых клеток (ППК) в зрелые сперматозоиды и яйцеклетки. Развитие характерных особенностей пола в онтогенезе включает два последовательных этапа: *первичное определение пола* и дальнейшее появление и *развитие вторичных половых признаков*. Первичное определение пола начинается с момента его детерминации и заканчивается формированием яичников у самок и семенников у самцов – репродуктивных органов соматической природы. Считают, что принципиальная схема этого процесса консервативна [2, 3]. Следует отметить, что на этапе первичного определения пола при определенных нарушениях развития может произойти инверсия пола. При этом возникает несоответствие между генетическим и фенотипическим полом. Другой тип инверсии пола может происходить у половозрелой особи

при определенных условиях. И в первом и во втором случаях речь идет о смене пола на противоположный.

Выделяют два основных механизма детерминации пола: *генетический*, который определяется посредством полоопределяющих мастер-генов, и *экологический* (или *средовой*), который зависит от условий окружающей среды (температура, pH, социальные особенности популяции и др.). Млекопитающие и птицы обладают исключительно генетическим механизмом детерминации пола (GSD), у рептилий наряду с GSD существует *средовой* механизм детерминации пола (ESD). Для амфибий характерна GSD-система с несформированными половыми хромосомами. Рыбы обладают разнообразными механизмами определения пола, включая ESD и GSD [1, 4, 5]. Генетическое определение пола может происходить до зачатия (при мейозе у организмов с женской гетерогаметностью) или в момент слияния половых клеток, а экологическое определение пола зависит от условий окружающей среды [4–8]. Определение пола под влиянием факторов внешней среды (ESD) в основном известно у рептилий, изопод, нематод и эхиурид (морских многощетинковых червей). При этом *средовая* детерминанта в определении пола у этих групп животных различна: у рептилий пол определяется температурой, у нематод – размером хозяина, у других животных – внутривидовыми взаимодействиями. Существуют две точки зрения относительно происхождения ESD. Согласно первой точке зрения ESD является примитивной, и поэтому может рассматриваться как первый механизм определения пола, позже замещенный на генетический механизм. Согласно второй точке зрения ESD возникла как адаптация к условиям окружающей среды [9]. Филогенетические исследования показали частые эволюционные переходы между генетической и температурно-зависимой детерминациями пола у животных, чувствительных к условиям окружающей среды. Эти переходы включают генетические системы, чувствительные к температуре, которые участвуют в детерминации пола посредством взаимодействия генов и условий окружающей среды [10]. У чешуйчатых (ящерицы и змеи) и у рыб переходы от экологической детерминации пола к генетической происходят чаще, чем наоборот. Это позволяет предположить, что генетическое определение пола более стабильно [11]. В разных условиях окружающей среды оказывается предпочтительной либо ESD, либо GSD. В сильно варьирующих условиях окружающей среды предпочтительнее ESD, в непредсказуемых условиях или в условиях с низкой вариабельностью – GSD. Однолокусная GSD является более стабильной, чем ESD. В течение всего периода нестабильности условий окружающей среды она приводит к сильному смещению в соотношении полов, в то

время как ESD сдвигает это соотношение ненаправленного [12].

Выделяют две основные системы *хромосомного определения пола*: с мужской (XX/XY) или с женской (ZZ/ZW) гетерогаметностью, а также их многочисленные варианты [4]. У амфибий обнаружены обе системы хромосомного определения пола [13–16], при этом у разных видов половые хромосомы обладают разной степенью гомоморфности и гетероморфности. Они могут быть гомоморфными у обоих полов и иметь незначительные изменения, а могут быть гетероморфными и иметь значительные различия у представителей разных популяций одного вида [17]. Гетероморфные или гомоморфные половые хромосомы имеют тесную корреляцию с консерватизмом полоопределяющих генов. Если хромосомы гетероморфные у одного из полов, полоопределяющие гены эволюционно консервативны. Если половые хромосомы гомоморфные у обоих полов, как у 96% видов амфибий, полоопределяющие гены в половых хромосомах легко и быстро замещаются на другие гены в других хромосомах. Это явление называют “замещением полоопределяющих генов и половых хромосом” (“turnover of sex-determining genes and sex chromosomes”) и наблюдается у большинства пойкилотермных позвоночных [15, 18]. Как у рыб, так и у земноводных обнаружено, что переходы от гомоморфных половых хромосом к гетероморфным происходили чаще, чем наоборот. Кроме того, обнаружено, что переходы от мужской гетерогаметности к женской происходили с одинаковой скоростью у земноводных и чешуйчатых, тогда как переход от женской гетерогаметности к мужской у рыб происходил с большей скоростью [11].

В настоящее время существуют две точки зрения относительно эволюции систем генетического определения пола. Считают, что предковой формой генетического определения пола является система, основанная на мужской гетерогаметности, из которой впоследствии сформировалась система с женской гетерогаметностью. Однако эта гипотеза противоречит эволюционной теории гетерогаметной детерминации пола у амфибий, в соответствии с которой первичной является женская гетерогаметность [13–15]. Также есть предположение, что обе системы существовали одновременно и были равнозначными и взаимозаменяемыми. Так, например, у японской лягушки *Rana rugosa* встречаются обе системы хромосомного определения пола (XX/XY и ZZ/ZW) в пределах одного вида, но в определенных локальных популяциях [13].

Формирование гонад (*гонадогенез*) и их функционирование зависят от половых гормонов (эстрогенов и андрогенов). Особенно это характерно для холоднокровных позвоночных животных. У

рыб, некоторых амфибий и рептилий известны случаи естественной смены пола (*инверсии пола*) в онтогенезе одной и той же особи, при сохранении набора половых хромосом и без нарушений функции гонад. Эти эффекты в основном опосредованы эстрогенами, андрогенами и соответствующими им ядерными рецепторами (ESR и AR). У теплокровных позвоночных (птиц и млекопитающих) естественная инверсия пола в норме не встречается, все ее проявления являются патологией и элиминируются естественным отбором. Экспериментальным путем удалось получить инверсию пола у домашней курицы. Инверсию пола можно наблюдать у человека при нарушениях полового развития, которые представляют собой многообразную группу нарушений, возникающих на разных этапах дифференцировки пола и формирования половых органов. Выделяют центральные и периферические нарушения, первые из которых связаны с повреждением мозговых структур (гипоталамо-гипофизарной системы), а вторые — с патологиями половых органов. Отдельно выделяют группу патологий с нарушением половой дифференцировки, когда закладка пола нарушается внутриутробно. Нарушения формирования пола (НФП) у человека — это врожденная патология развития, при которой наблюдается несоответствие генетического, гонадного, фенотипического и психологического пола. Значительная часть нарушений формирования пола и полового развития обусловлены именно генетическими факторами [19].

Известно, что молекулы половых гормонов через соответствующие рецепторы запускают экспрессию многих генов. Ключевые полоопределяющие гены, каскады взаимодействий их продуктов с другими генами или их производными, найдены и изучаются у многих модельных объектов, но результаты этих исследований противоречивы. Стероидные гормоны могут регулировать до 1000 генетических детерминант пола, характер их взаимодействия остается неясным [20].

В нашей статье, рассматривая описанные в научной литературе случаи естественной инверсии пола у рыб, амфибий и рептилий, а также экспериментальной инверсии пола у птиц, мы пытаемся обобщить данные о факторах, которые могут влиять на детерминацию и дифференцировку пола.

ИНВЕРСИЯ И ДЕТЕРМИНАЦИЯ ПОЛА У РЫБ, АМФИБИЙ И РЕПТИЛИЙ

Естественная инверсия пола характерна для небольшого количества видов холоднокровных позвоночных. Возможно, это связано с недостаточной изученностью данных групп и в дальнейшем это явление будет обнаружено у большего количества видов. Наиболее часто естественная инверсия пола встречается у рыб [21], но даже для

этой группы процент обнаруженных видов с этим явлением очень мал. Значительно реже инверсия пола в природе встречается у амфибий [15, 16], а у рептилий известен только один вид с этим явлением [10].

В путях детерминации пола у позвоночных наблюдается эволюционный консерватизм, так как у всех выявлен ряд семейств генов, вовлеченных в этот процесс, что, видимо, ограничивает частоту встреч естественной инверсии пола. Экспрессия генов находится под контролем стероидных гормонов и влиянием условий окружающей среды. У рыб и амфибий дифференциация гонад чувствительна к воздействию эстрогенов и андрогенов, у рептилий — только к влиянию эстрогенов [8, 20]. У них даже однократная инъекция эстрогенов или ингибиторов ароматазы (блокируют синтез эстрогенов из андрогенов) может привести к инверсии пола. Следует также отметить, что характер воздействия экзогенных половых гормонов на пол зависит от стадии онтогенеза особи и от частоты гормонального воздействия [8].

Подробнее остановимся отдельно на каждой группе холоднокровных животных.

Рыбы

Рыбы представляют собой уникальную модель для изучения гермафродитизма у позвоночных животных [21–26]. Рыбы обладают самыми разнообразными типами репродуктивных систем (от гермафродитизма до гонохоризма) и стратегиями размножения среди позвоночных животных, а также пластичностью изменения пола во взрослом состоянии [21]. Для рыб характерна пластичность половых и соматических клеток, поддерживаемая на протяжении всего жизненного цикла и находящаяся под влиянием факторов внешней среды. У рыб температурное определение пола распространено менее, чем думали ранее, из-за большей редкости унисексуальных популяций даже в экстремальных условиях. Эффект эстрогенов, действующих через соответствующие рецепторы, заметен сильнее. Показано, что 2% костистых рыб, принадлежащих к 20-ти различным семействам, способны менять пол. Изменения гонад соответствуют изменениям концентрации стероидов в плазме. При этом стероиды, контролирующие дифференциацию гонад, — 17- β -эстрадиол (E2) и 11-кетотестостерон (11-КТ) — являются главными половыми стероидными гормонами. Например, у черного окуня соотношение полов регулируется динамически: один пол увеличивается в количестве, а количество другого остается постоянным [21, 22]. Судьба первоначальной гонады определяется и поддерживается через передачу сигналов от гипоталамо-гипофизарной системы к полоопределяющему гену. В целом экспрессия генов *dmrt1* (*doublesex* и *mab-3*-связанного фактора транскрип-

ции 1) в семеннике и *sup19a1a* в яичнике имеет решающее значение для развития самцов и самок соответственно [21, 22].

При изучении механизмов регуляции соотношения полов у костистых рыб было описано большое разнообразие механизмов детерминации пола. Это разнообразие связано как с генетическими факторами, так и с условиями окружающей среды, такими как температура, pH, и даже с социальными факторами, которые могут влиять на соотношение полов. Иногда условия окружающей среды влияют на детерминацию пола быстрее, чем генетическая система [21, 23, 27].

Фенотипический пол у рыб можно изменить под действием экзогенных гормонов, если их использовать до половой дифференциации [21, 28, 29]. Молодые рыбы чувствительны к физическим и химическим факторам окружающей среды, которые влияют на их гипоталамо-гипофизарную систему [21]. У одних видов дифференциация пола находится под строгим генетическим контролем и не требует производства половых стероидных гормонов. У других видов для дифференциации гонад необходимы половые гормоны и этот феномен ассоциирован с зависимостью дифференциации пола от условий окружающей среды (главным образом от температуры). Характер гонадной половой дифференциации может быть разнообразным: виды могут быть гермафродитными или гонохористичными, некоторые из которых проявляют ювенильный гермафродитизм [20, 21, 30, 31].

Генетическая детерминация пола у рыб может включать как моногенные, так и полигенные системы, а ключевые полоопределяющие гены могут располагаться в аутосомах и/или в половых хромосомах. Некоторые семейства генов, которые вовлечены в детерминацию пола у других позвоночных, недавно были найдены и у рыб, что предполагает наличие эволюционного консерватизма в путях детерминации пола. У рыб описаны как мужская (XY), так и женская (ZW) гетерогаметные системы, а также многие другие их вариации. Половые хромосомы обнаружены приблизительно у 10% изученных видов рыб. Некоторые виды рыб размножаются гиногенетически, т.е. имеют популяцию только из особей женского пола [32].

В отношении механизмов детерминации пола рыбы принадлежат к наиболее сложной группе позвоночных животных [21]. Согласно известным механизмам детерминации пола рыб разделяют на три группы:

- *гонохорические*: пол определяется генетически и фиксирован на протяжении всей жизни особи;
- *последовательные гермафродиты (протоандрические виды)* — пол меняется в направлении са-

мец → самка, и *протогенетические виды* — пол меняется в направлении самка → самец, а также в обоих направлениях в течение всей жизни);

- *унисексуальные*, представленные только одним полом, что характерно для вида *Poecilia formosa*.

Характер дифференциации пола у костистых рыб также дивергентен и изменчив. У различных гонохорических видов, таких как лобан или черная кефаль, канальный сомик, обыкновенный судак и медака, недифференцированные гонады развиваются в яичники у генетических самок раньше, чем в семенники у генетических самцов. Однако у недифференцированных гонохорических видов, таких как обыкновенный угорь, сима, суматранский барбус и данио-рерио, недифференцированные гонады вначале развиваются в яичнико-подобные гонады. У одной половины этих рыб яичнико-подобные гонады позже становятся яичниками и производят ооциты. У другой половины этих рыб они развиваются в семенники и рыбы становятся самцами [33].

Амфибии

Пол большинства амфибий генетически детерминирован, хотя в последнее время появились сообщения о существовании негенетической детерминации пола у этой группы позвоночных животных [13]. На половых хромосомах различных видов лягушек картированы многие гены, ассоциированные с дифференциацией гонад, и выявлены гены с эффектами феминизации и маскулинизации. По-прежнему мало известно о молекулярных механизмах, лежащих в основе детерминации пола у лягушек [12, 13].

В случае бугорчатой лягушки перестройки, возникающие в половых хромосомах, могут стать причиной изменения механизма гонадной дифференцировки: от чувствительной до устойчивой инверсии пола, включающей связь между изменениями в половых хромосомах и контролем за соотношением полов [14]. Необычная система детерминации пола описана у японской рисовой лягушки *Fejervarya kawamurai*. Получаемое в потомстве соотношение полов у этой лягушки трудно объяснить только механизмом детерминации пола, основанным на генетической и средовой системах. Оно зависит от того, какие особи вступили в скрещивание. В случае близкородственного и обратного скрещиваний, а также диплоидного гиногенеза соотношение полов сдвигается в сторону большего количества самцов, но при этом повышена смертность среди потомства. При скрещивании аутбредных самок с самцами из географически изолированных популяций соотношение полов становится нормальным (1 : 1) и смертность снижается [14].

Процессы детерминации и дифференциации пола хорошо изучены у многих бесхвостых амфибий [34], и только несколько видов хвостатых амфибий изучены в этом плане: иглистый и магрибский тритоны (*Pleurodeles waltl* и *P. poireti*), гребенчатый тритон *Triturus cristatus*, огненнобрюхий тритон *Synops pyrrohogaster*, огненная саламандра *Salamandra salamandra*, тигровая и мексиканская амбистомы (*Ambystoma tigrinum* и *A. mexicanum*). На этих видах были исследованы: влияние половых гормонов на дифференциацию по полу, температурно-зависимая инверсия пола, эффект андрогенов и P450-ароматазы на дифференциацию пола, экспрессия генов, регулирующих этот процесс. В целом и хвостатые и бесхвостые амфибии имеют сходный механизм дифференциации гонад по полу. Обе группы являются гонохорическими. Особый интерес вызывает развитие гонад у мексиканской амбистомы, для которой характерно явление неотении [35]. Кроме того, у амфибий найдены интересные случаи естественной инверсии пола: с изменением состава половых хромосом в кариотипе, под влиянием температурных и других условий развития молодых амфибий [15, 16]. Например, инверсия пола распространена в популяциях крикливой лягушки *Lithobates clamitans* [36].

Модели дифференциации пола у земноводных можно разделить на три типа [12]:

- прямое развитие недифференцированных половых желез в семенники или яичники;
- развитие недифференцированной гонады в яичник и последующее развитие семенника из яичника;
- развитие семенника через межсексуальную фазу.

Доминирующая гипотеза определения пола для земноводных предлагается в отношении японской морщинистой лягушки *Rana rugosa*. У нее описаны четыре популяции, в одной из которых (северная популяция) самки гетерогаметны. Предполагается, что в данном случае нет необходимости в полоопределяющих генах в связи с наличием транскрипционных факторов, локализованных в X- или W-хромосомах. У самцов механизм определения пола поддерживает регуляцию секреции стероидных гормонов в недифференцированных гонадах путем ингибирования транскрипции гена *sup19*, существенного для образования яичников [12]. Согласно экспериментальным данным, полная инверсия пола наблюдается у AR—T-трансгенной самки лягушки (ZW) при низкой дозе тестостерона в воде во время выращивания головастика. В инвертированных по полу семенниках экспрессия генов *dmrt1*, *ar* и *sup17*, необходимых для маскулинизации, была значительно повышена. В том же эксперименте никакой инверсии пола не наблюдалось у экспериментальных самок при исполь-

зовании доз тестостерона достаточных, чтобы вызвать полную инверсию пола у дикого типа лягушек. В половых железах таких самок экспрессия генов, необходимых для маскулинизации, не была достаточно отрегулирована. Эти результаты демонстрируют, что андрогеновый рецептор (AR) вместе с андрогенами может быть детерминатором пола у самцов амфибий [37, 38].

У амфибий обнаружены многие полоопределяющие гены (*Sf1*, *WT1*, *Sox9*, *Amh*, *Dmrt1*, *Dax1*, *Sox3*, *Sox18*, *Sox12* и др.) и изучена их экспрессия в гонадах самцов и самок. Их наличие в геноме амфибий и характер их экспрессии указывает на консерватизм системы детерминации и дифференциации пола у позвоночных [16, 39]. На основе анализа генов, сцепленных с полом, и данных о кариотипах у лягушек было обнаружено восемь генов в шести различных хромосомах, которые могут быть кандидатами в качестве полоопределяющих генов. Два случая замещения по типу “turnover of sex-determining genes and sex chromosomes” были изучены у прудовой лягушки Дарумы *Pelophylax porosa brevipoda* и у бурой лягушки *Rana japonica* из Японии. Интересные случаи описаны у травяной лягушки *R. temporaria*, лягушки Наппарагава *Rana sakuraii*, бугорчатой лягушки *Glandirana rugosa*, поющей бюргерии *Buergeria buergeri*, когтистой и кенийской шпорцевых лягушек (*Xenopus tropicalis* и *X. borealis*), съедобной лягушки *Pelophylax esculentus*, леопардовой лягушки *Lithobates pipiens*, лягушки-быка *L. catesbeianus* и крикливой лягушки *L. clamitans* [14].

Рептилии

Определение пола под воздействием температуры (TSD) известно и изучено у черепахах, крокодилов и ряда видов ящериц, но не найдено у змей. Предполагают, что такой механизм определения пола имеет адаптивное значение.

В период раннего развития гонады ее эпителиальные клетки разделены и объединяются в эпидермальную полосу мезенхимы мезонефроса. Далее в течение так называемого “температурно-зависимого периода” такая полоска образует семенные каналы с эпителием, клетками Сертоли или пробелами с плоскоклеточным эпителием. Механизм определения пола по этому типу не ясен. Очевидно, он обнаруживается у видов с недифференцированными половыми хромосомами. Переход от температуры, при которой формируются самки (FPT), к температуре, при которой формируются самцы (MPT), осуществляется через температурно-чувствительный период (TSP), через так называемое “окно возможностей” [40–42]. В этот период гонада остается бипотенциальной, но вне этого периода гонада начинает развиваться в определенном направлении и изменить пол уже нельзя. У некоторых видов рептилий пол не является

фиксированным на всю жизнь, и первоначальный пол может измениться [42].

У рептилий существует “открытая” программа определения пола. Считается, что в этом случае пол зависит от соотношения эстрогенов и андрогенов в период дифференциации гонад. Температура инкубации может изменить активность генов, кодирующих ароматазу, рецептор эстрогена и редуктазу. Разные таксономические группы рептилий имеют разные механизмы регулирования пола. К температуре инкубации может быть чувствительной экспрессия генов *sox9* и *dax1* (пресноводные черепахи – Emydidae) и генов *sox9*, *sf1* и *wl1* (сухопутные черепахи – Testudinidae). Для миссисипского аллигатора *Alligator mississippiensis*, красноухой черепахи *Trachemys scripta* и оливковой ридлеи *Lepidochelys olivacea* уровень экспрессии гена *dmrt1* выше во время инкубации эмбрионов при температуре, которая способствует появлению самцов. У красноухой черепахи большое количество продукта хроматин-модифицирующего гена *kdm6b* (lysine-specific demethylase 6B), которое наблюдается при температуре, благоприятной для появления самцов, активирует экспрессию *dmrt1*, а снижение его экспрессии благоприятствует появлению самок. Этот феномен связан с триметилированием лизина 27 в гистоне 3 (H3K27). Эта модификация репрессирует промоторную активность гена *dmrt1*. Ген *kdm6b* является членом семейства генов Jumonji, которые у рептилий вовлечены в детерминацию пола. Один такой ген *cirbp* (индуцируемый холодом РНК-связывающий белок), кодирующий температурно-индуцируемый РНК-связывающий белок с функцией стабилизации мРНК и регуляции трансляции, описан у каймановой черепахи *Chelydra serpentina*. Его экспрессия влияет на детерминацию пола у эмбрионов, развивающихся в соответствующем температурном режиме [43].

У 34 видов рептилий с температурным и генетическим механизмами определения пола удалось обнаружить различия в структуре гена *dmrt1*. Изменения обнаружены в последовательности экзона 2, вблизи DM-связывающего домена. У видов с температурным определением пола в положении 54 аминокислотной последовательности DMRT1 встречается треонин (T54), а серин – в положении 57 (S57). В то же время у видов с генетическим механизмом определения пола серин наблюдается не только в положении 57, но и в 54 (S54–S57). Это первое описание молекулярных различий в конкретном гене с изменением механизма определения пола [43].

Есть только одно сообщение об инверсии пола у рептилий в дикой природе (австралийская бородатая агама *Pogona vitticeps*) и использовании животных с инвертированным полом, чтобы экспериментально вызывать быстрый переход от

GSD к ESD [10]. В этом случае контролируемое спаривание нормальных самцов с самками с переменным полом дает жизнеспособное и плодовитое потомство, фенотипический пол которого определяется исключительно с помощью механизма TSD. При этом половая хромосома W исключена уже в первом поколении. Одновременное появление потомства с чувствительностью к температуре и набором половых хромосом ZZ показывает новую климат-индуцированную детерминацию пола для быстрого перехода между генетической и температурно-зависимой детерминацией пола и помогает адаптироваться к условиям быстро меняющегося климата [10].

ИНВЕРСИЯ ПОЛА У ПТИЦ

У птиц, и прежде всего у курицы, описаны многочисленные примеры экспериментальной инверсии пола с помощью инъекций эстрогена, ингибиторов его метаболизма, удаления гонад. Результаты трудно интерпретировать в терминах закономерностей детерминации пола. В большинстве случаев эффект временный. У самок с инверсией пола маскулинизирован только правый яичник, а сперматозоиды, несущие W-хромосому, не формируются [44]. Особого внимания заслуживают результаты экспериментов, в которых использовалась микроинъекция ингибитора ароматазы в оплодотворенное яйцо на 4–5-е сутки инкубации. В этих случаях сообщается об инверсии пола с превращением самок в фенотипических самцов с правым овотестисом и низкой фертильностью [45–47]. В серии статей китайских исследователей описаны изменения активности главных генов детерминации пола у опытных животных и их особый гормональный и эпигенетический статус [48, 49]. Другая группа ученых получила результат, свидетельствующий о том, что аномальное развитие семенников у инвертированных по полу самок курицы регулируется генами, связанными с полом, и длинной некодирующей РНК (lncRNA), а Wnt- и TGFβ/BMP-сигнальные пути играют важную роль в дифференцировке гонад и поддержании их функции у курицы [50, 51]. Показано, что одновременная обработка ингибитором ароматазы и инсулиновым фактором роста 1 оплодотворенных яиц даже на 5-е сутки инкубации способна повлиять на процесс инверсии пола [52]. Удалось продемонстрировать инверсию пола у самок в самцов после инъекции ингибитора ароматазы в первый день инкубации, гистологически сопровождаемый более полным превращением яичника в семенник [53].

Стероидогенные факторы также влияют на развитие гонад у птиц. Сравнительный анализ показал, что у курицы важную роль в генерации поддерживающих клеток играют клетки нефрогенной мезенхимы (рис. 1, [53]). Удалось косвен-

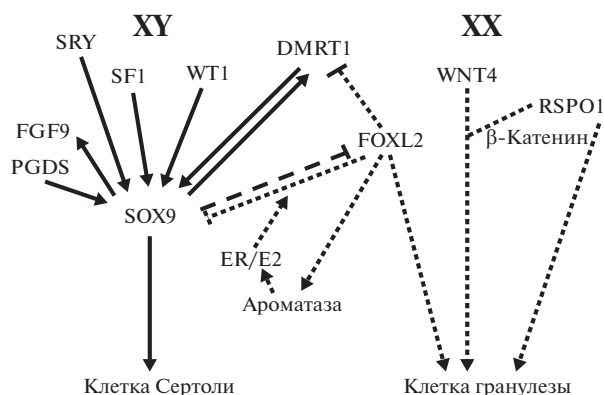


Рис. 2. Молекулярные механизмы детерминации пола у млекопитающих, ведущие к формированию поддерживающих клеток самцов или самок (адаптировано по [63]).

стороне имели кариотип ZZ, а на левой стороне имелась смесь клеток с кариотипами ZZ и ZW. Более того, число клеток с ZW-кариотипом было намного меньше, чем с ZZ-кариотипом. Уменьшенный процент клеток с кариотипом ZW (23%) не влиял на проявление черт самки. Основываясь на этих наблюдениях, было предположено, что даже небольшого процента клеток ZW достаточно для поддержания дифференциации пола в направлении самок. Однако этих клеток недостаточно для инверсии пола, и различные диморфные особенности у половозрелой особи могут возникать из-за различий в дозе генов, расположенных в Z хромосоме [61].

У позвоночных животных бипотенциальная гонада способна к развитию семенника или яичника посредством ряда регуляторных преобразований (рис. 1, [53]). У курицы развитие гонад происходит на третьи сутки эмбрионального развития и характеризуется утолщением целомического эпителия, вентрального к мезонефросу. Гистологическая дифференциация гонад у курицы происходит на 6–6.5-й день. У самок внешний кортикальный слой в левой гонаде утолщается и аккумулирует половые клетки, а внутренняя медулла образует лакуны, заполненные жидкостью. Позднее в эмбриогенезе (15.5-й день) инициируется мейоз. Основой поддерживающей клеточной линии в семенниках являются клетки Сертоли и Лейдига, а в яичниках – клетки гранулезы и теки (рис. 2). Эти клетки дифференцируются из клеток мезенхимы. У самцов гонада возникает из медуллы, образуя семявыносящий корд, окружающие его пре-Сертоли клетки и появляющиеся в гонадах первичные половые клетки. Клетки пре-Сертоли синтезируют антимюллеровский гормон (АМГ), вызывающий регрессию Мюллерова протока. Клетки Лейдига располагаются в мезенхиме, вне семявыносящего корда. Белок DMRT1 синтези-

руется в пре-Сертоли и Сертоли-клетках медуллы гонад, а также половых клетках самцов и самок. У самок он позднее исчезает. Предполагают, что он участвует в дифференциации первичных половых клеток самцов в сперматогонии. Участие гена *dmrt1* в дифференцировке ППК подтверждено и у других видов птиц: у зебровой амадины *Taeniopygia guttata* и эму *Dromaius novaehollandiae*. Таким образом, *dmrt1* рассматривается как главный полоопределяющий ген, который необходим для развития Мюллерова протока. Цепочка генов, важных для становления самцов у птиц, содержит помимо *dmrt1* также гены *HEMGN* и *sox9*, активирующиеся позднее (соответственно на 4.5-, 5.5- и 6-й дни инкубации) и приводящие к формированию признаков самца [60–62].

У птиц эстроген является главным регулятором развития яичников. Эстроген может временно феминизировать развитие гонад у самцов. Антиэстроген (например, тамоксифен) нарушает развитие гонад самок. Инъекция ингибиторов ароматазы приводит к частичной инверсии пола, и самка становится “самцом”. Ген ароматазы (*cyp19a1*) активизируется на 6.5-й день эмбрионального развития в гонадах самок, но не самцов. Нарушение экспрессии ключевых генов самцов (*dmrt1* и *sox9*) сопровождается повышенной активностью генов самок (*foxl2* и *rspo1*). Как и у других позвоночных, *foxl2* специфичен для яичников и срабатывает на 5-й день эмбрионального развития, перед началом развития яичников. Более того, продукты генов *foxl2* и *cyp19a1* совместно локализируются в медулярном корде. Предполагается наличие антагонизма между генами *foxl2* и *sox9* [60].

Ген *dmrt1* рассматривают как главный полоопределяющий ген у птиц. Основным аргументом в пользу этой точки зрения считается инверсия пола у самцов после его “выключения” с использованием РНК-интерференции в первый день инкубации [63]. Однако противоречивыми оказались результаты экспериментов с трансгенезом [60, 64]. Также существует возможность инверсии пола самки на пол самца при введении ингибитора ароматазы [45–48, 65, 66]. Стоит упомянуть нестабильное превращение самцов в самок после инъекции эстрогенов [8, 57]. Можно предположить, что у птиц по аналогии с другими позвоночными первичное определение пола (появление той или иной гонады) зависит от содержания эстрогенов в яйце в начале эмбриогенеза. Присутствие W-хромосомы у самок предполагает, что синтез эстрогенов индуцируется генами, расположенными в этой хромосоме. Этот процесс может быть связан с рядом факторов, включая длинные некодирующие РНК [67, 68]. Следует отметить, что lncРНК-транскрипты не кодируют белки и имеют длину более чем 200 нуклеотидов. Предполагают, что развитие семенников у самцов курицы совместно регулируется половыми гормо-

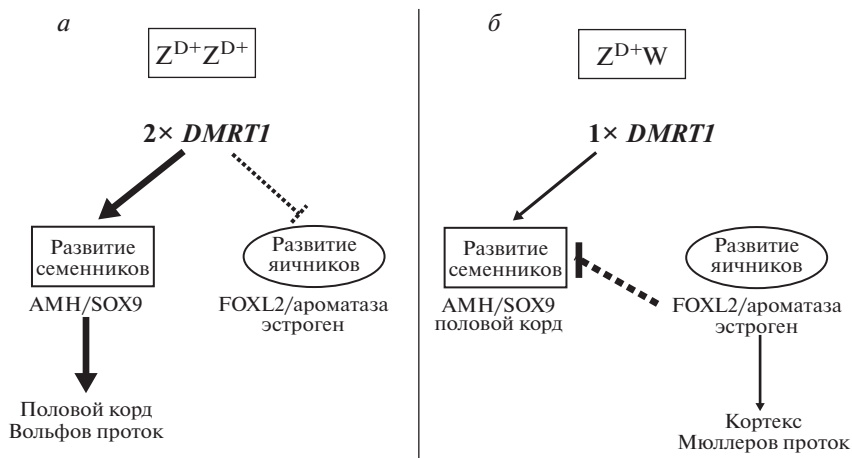


Рис. 3. Схема генетической детерминации пола у курицы (а и б). Генная сеть, регулирующая развитие гонад самцов и самок. Z, W – половые хромосомы, Z^{D+} – присутствие гена *DMRT1* в хромосоме Z, 2 × *DMRT1*/1 × *DMRT1* – две/одна копии гена *DMRT1* (адаптировано по [71]).

нами (прежде всего эстрогенами), связанными с полом генами, длинными некодирующими РНК и сигнальными путями Wnt и TGFβ/BMP. Желательно обратить внимание на некодирующие РНК, их связь с W-хромосомой и их роль в определении пола птицы. Схема первичного определения пола представлена в [3].

Ген *dmrt1* необычен тем, что он экспрессируется как в клетках Сертоли, так и в половых клетках. У птиц функция DMRT1 заключается не в определении первичного пола, а в сохранении уже сформированного семенника [69].

Остановимся на недавно опубликованных результатах, полученных с использованием редактирования генома курицы с целью изучения первичной детерминации пола у этого объекта (рис. 3). С помощью CRISPR/CAS9-метода были получены ППК с поврежденным нефункциональным геном *dmrt1* и с четырьмя классами хромосомных генотипов в соотношении 1 : 1 : 1 : 1. Это были особи $Z^{D+}Z^{D+}$, $Z^{D+}W$, $Z^{D+}Z^{D-}$ и $Z^{D-}W$ (аббревиатура Z^{D+} и Z^{D-} означает носительство нормального и выключенного гена). Эмбрионы $Z^{D+}Z^{D-}$ обладали гонадами самок с E5.5 по E17.5 дни развития, что демонстрирует важность потери копии гена *dmrt1* у самцов. Такое развитие этих эмбрионов сохраняется и в возрасте пяти недель. Их гонады обладали только маленькими и средними фолликулами и не созревали под действием гормонов гипоталамуса, гипофиза или гранулезы, как у нормальных самок. Неожиданно у этих особей были обнаружены левый и правый яичники. Правый укороченный, как и соответствующий Мюллеров проток [70].

Потеря функционально активного гена *dmrt1* у $Z^{D-}W$ -самок не сильно отражается на оогенезе эмбрионов. У них развивается левый яичник с

утолщенным кортексом, содержащим половые клетки. Однако уже у пятидневных особей невозможно обнаружить фолликулы с ооцитами. Предполагают, что повреждение гена *dmrt1* приводит к потере половых клеток после проклевывания, а сам ген участвует в поддержании мейоза. Вероятно экспрессия двух копий этого гена у нормальных самцов прямо или косвенно супрессируется активностью FOXL2. Было продемонстрировано, что у $Z^{D+}Z^{D-}$ -эмбрионов левая гонада развивается в яичник, а при недостатке эстрогенов обе гонады развиваются в семенники. Блокирование эстрогенов у $Z^{D+}W$ и $Z^{D+}Z^{D-}$ -эмбрионов приводит к образованию семенников. Это показывает, что DMRT1 необходим для формирования семенников и выживания ППК, но не требуется для появления яичников. Различия между самцами и самками у птиц являются результатом комбинации хромосомной конституции и гонадных гормонов. Предполагают наличие у птиц основополагающей роли автономной половой идентичности клеток – CASI (Cell Autonomous Sex Identity) в установлении сексуального фенотипа и малое влияние гормонов на половые характеристики [71–75].

Поскольку у птиц самки являются гетерогаметными, пол будущего поколения определяется еще на стадии первого деления мейоза. Есть предположение, что самки птиц способны физиологически контролировать соотношение полов у будущего потомства, на уровне мейотического драйва [74, 75]. В этом процессе определенную роль могут играть промежуточные продукты биосинтеза стероидов, в том числе прогестерон [76–80].

Последнее время конкурировали две гипотезы об определении пола у птиц. Одна из этих гипотез рассматривала число Z-хромосом как ключевой

фактор определения пола. Другая гипотеза предполагала наличие в W-хромосоме ключевого гена, контролирующего развитие яичников или подавляющего появление семенников. В настоящее время подробно изучен механизм инактивации генов на конце длинного плеча хромосомы Z у курицы с помощью РНК-интерференции, который запускается присутствием в кариотипе хромосомы W [81]. Снижение экспрессии гена *dmrt1 in ovo* в результате РНК-интерференции приводит к феминизации эмбриональных половых желез у генетических самцов (ZZ). В феминизированной левой гонаде наблюдается снижение экспрессии гена *sox9* и увеличение экспрессии гена *cyp19a1* (ген ароматазы). Это наблюдение подтверждает гипотезу о наличии дозовой компенсации с участием гена *dmrt1*. В феминизированной правой гонаде экспрессия соответствующих генов другая. Это указывает на дифференциальную чувствительность к воздействию белка DMRT1 в левой и правой гонадах. Половые клетки в феминизированных гонадах распределяются как в яичниках. Результаты этого эксперимента указывают на особую роль гена *dmrt1* в развитии семенников, но при этом отсутствуют четкие доказательства того, что этот ген контролирует первичную детерминацию пола [77]. В некоторые схемы генетического контроля определения пола у птиц добавлены эпигенетические механизмы [63, 82–84].

W-хромосома курицы имеет длину около 7.08 Мб и содержит всего 28 генов. Эволюционно эта хромосома претерпела обширную деграцию и накопление повторяющихся нуклеотидных блоков ДНК. Было показано, что исчезновение генов, специфичных для W-хромосомы, не является случайным, и высказано предположение, что сохранение некоторых генов связано с тем, что W-хромосома находится под высоким эволюционным давлением из-за отсутствия рекомбинации. Все гены, которые сохранены в W-хромосоме, имеют гомологов в Z-хромосоме и относятся к категории дозозависимых генов, чувствительных к снижению дозы. Ни один из этих генов не имеет значения для дифференцировки и детерминации пола [84–87]. Примечательно, что самые распространенные и специфичные для нее повторы *XhoI*, *EcoRI*, *SspI* и недавно описанные $(GGAAA)_n$ -последовательности плотно упакованы в хромеры и не транскрибируются на стадии ламповых щеток. Было показано, что *XhoI*, *EcoRI* и *SspI* не имеют каких-либо значительных различий у представителей отрядов Курообразных, Аистообразных и Воробьинообразных. Поиск особой роли W-хромосомных генов в детерминации семенников и яичников продолжается [86]. В недавно опубликованной работе китайские исследователи сравнивали W-хромосомы 27 видов птиц, среди которых были представители Воробьинообразных, Курообразных и группы Древнеобитавших.

Ими был обнаружен значительный консерватизм данной хромосомы, несмотря на генетическую отдаленность исследованных видов, и отсутствие генов, специфичных для самок [88]. Также ими была исследована изменчивость блоков ДНК из амплификона гена *hintW* хромосомы W у утки и курицы. У утки был обнаружен консерватизм количества копий этих амплифицированных генов, а для курицы — описана межпородная изменчивость. Авторы предполагают наличие особой роли амплификации *hintW* у курицы (в отличие от уток) в репродукции самок и оогенезе [89]. W-хромосомный ген *hintW* (также называемый *Asw* и *Wpkcl*) стали рассматривать в качестве важнейшего регулятора детерминации пола у птиц, усиливающего активность генов *foxl2* и *cyp19a1* у самок и ингибирующего экспрессию генов *sox9* и *dmrt1* у самцов. Он контролирует образование гонадного кортекса — основы для появления семенников. HINTW не только контролирует развитие гонад, но и отвечает за асимметрию яичников — дегенерацию правой гонады. Этот ген имеет Z-хромосомный гомолог *hintZ* и в отличие от последнего не обладает гистидиновой триадой и способностью связывать аденозинмонофосфат (АМФ) с лизином [90, 91]. Необходимо сопоставление участия в процессе детерминации пола и других полоопределяющих генов, таких как *JUN*, *smad2*, *UBE2I* [92]. Привлекает внимание и феномен полоограниченных хромосом у певчих птиц [92]. Рассматривается возможность влияния специфических генов этой хромосомы на ее конденсацию по аналогии с *Vkm*-повторами некоторых змей [44, 93].

Рассмотренные данные послужат для интеграции схем детерминации пола у птиц и адаптации наиболее приемлемой гипотезы инверсии пола у курицы к практическому использованию.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Естественная инверсия пола у позвоночных животных — довольно редкое явление. Чаще всего она встречается у рыб (всего 2% из всех изученных видов) [22], реже — у амфибий и рептилий и не наблюдается в норме у птиц и млекопитающих. Разные случаи инверсии пола были описаны и изучены у человека [20], все они являются патологией развития. Редкие случаи подобной инверсии пола выявляются в природе у птиц и млекопитающих, но такие особи, как правило, не оставляют потомства. Возможно, эволюционный консерватизм ряда полоопределяющих генов у позвоночных животных не поддерживает развитие естественной инверсии пола и этот процесс не получил преимущества в эволюции. Изучение естественной инверсии пола далеко от завершения. Процент изученных видов в этом аспекте низок [93–95].

Исследования в лабораторных условиях показали, что можно вызвать искусственную инверсию пола у птиц, например у домашней курицы. Полученные результаты в таких исследованиях, безусловно, внесли существенный вклад в понимание проблемы первичной детерминации пола у птиц, особенно относительно разноплановой роли DMRT1. Аспекты, связанные с взаимодействием полоопределяющих генов и стероидов, только затронуты. Необходимы дальнейшие исследования и создание всеобъемлющей схемы взаимодействий каскада полоопределяющих генов, половых гормонов и других участников детерминации и дифференцировки пола. Изучение механизмов детерминации и случаев инверсии пола у позвоночных нельзя рассматривать как завершенное, требуются уточнение и накопление более определенных результатов [71–75].

Возможность инвертирования пола у курицы может помочь решить экономическую проблему. Необходимо проводить исследования по инвертированию пола и в деле спасения видов, находящихся на грани исчезновения, когда счет оставшихся особей измеряется единицами, а также продолжать исследования естественной инверсии пола у других видов, для которых может быть характерным это явление. Было бы интересно проверить наличие/отсутствие инвертирования пола у видов, обитающих в экстремальных условиях (горы, пустыни), видов, имеющих узкий ареал и низкую численность. Хотелось бы понять эволюционное значение инверсии пола для позвоночных, почему это явление не получило эволюционного преимущества и почему у одних видов это нормальное явление, а у других — только патология. В этой связи нужно дальше проводить изучение молекулярных механизмов инверсии пола, ее связь с детерминацией. Инверсия пола — интересное явление в мире позвоночных животных и ее изучение может привести к новым открытиям.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-14-50268, “Экспансия” (The reported study was funded by RFBR, project number 20-14-50268).

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием в качестве объекта животных.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием в качестве объекта людей.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Smirnov A.F., Trukhina A.V.* Specific features of sex determination in birds on the example of *Gallus gallus domesticus* // Gene Expression and Phenotypic Traits.

- UK: IntechOpen Limited, 2020. P. 338–481. <https://doi.org/10.5772/intechopen.91178>
2. *Cox R.M.* Sex steroids as mediators of phenotypic integration, genetic correlations, and evolutionary transitions // Mol. Cell. Endocrinol. 2019. V. 502. P. 110668. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2019.110668>
3. *Weber C., Capel B.* Sex reversal // Curr. Biol. 2018. V. 28. № 21. P. R1234–R1236. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2018.09.04>
4. *Wilhelm D., Palmer S.J., Koopman P.* Sex determination and gonadal development in mammals // Physiol. Rev. 2007. V. 87. № 1. P. 1–28. <https://doi.org/10.1152/physrev.00009.2006>
5. *Wilhelm D., Pask A.J.* Genetic mechanisms of sex determination // Encyclopedia of Reproduction. Elsevier Inc.: Acad. Press, 2018. V. 3. P. 245–248. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.64460-4>
6. *Ni M., Feretzaki M., Sun S. et al.* Sex in fungi // Annu. Rev. Genet. 2011. V. 45. P. 405–430. <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-110410-132536>
7. *Smirnov A.F., Trukhina A.V.* Molecular-Genetic Mechanisms of Sex Determination in Animals. USA: Sci. Res. Publ., Inc., 2017. P. 162. ISBN: 978-1-61896-390-1.
8. *Tagirov M.T.* Sex determination and control mechanisms in birds // Biotechnologia Acta. 2013. V. 6. № 1. P. 62–72. <https://doi.org/10.15407/biotech6.01.062>
9. *Bull J.J.* Evolution of environmental sex determination from genotypic sex determination // Heredity. 1981. V. 47. № 2. P. 173–184.
10. *Holleley C.E., O’Meally D., Sarre S.D. et al.* Sex reversal triggers the rapid transition from genetic to temperature-dependent sex // Nature. 2015. V. 523. № 7558. P. 79–82. <https://doi.org/10.1038/nature14574>
11. *Pennell M.W., Mank J.E., Peichel C.L.* Transitions in sex determination and sex chromosomes across vertebrate species // Mol. Ecol. 2018. V. 27. № 19. P. 3950–3963. <https://doi.org/10.1111/mec.14540>
12. *Nakamura M.* Is a sex-determining gene(s) necessary for sex-determination in amphibians? Steroid hormones may be the key factor // Sex. Dev. 2013. V. 7. № 1–3. P. 104–114. <https://doi.org/10.1159/000339661>
13. *Ma W.-J., Veltsos P.* The diversity and evolution of sex chromosomes in frogs // Genes. 2021. V. 12. P. 483. <https://doi.org/10.3390/genes12040483>
14. *Miura I.* Sex determination and sex chromosomes in amphibian // Sex. Dev. 2017. V. 11. № 5–6. P. 298–306. <https://doi.org/10.1159/000485270>
15. *Wallace H., Badawy G.M.I., Wallace B.M.N.* Amphibian sex determination and sex reversal // Cell. Mol. Life Sci. 1999. V. 55. P. 901–909. <https://doi.org/10.1007/s00033-99-070901-09>
16. *Eggert C.* Sex determination: the amphibian models // Reprod. Nutr. Dev. 2004. V. 44. P. 539–549. <https://doi.org/10.1051/rnd:2004062>
17. *Keating S.E., Blumer M., Grismer L.L. et al.* Sex chromosome turnover in bent-toed geckos (*Cyrtodactylus*) //

- Genes. 2021. V. 12. P. 116.
<https://doi.org/10.3390/genes12010116>
18. *Rovatsos M., Vukić J., Mrugała A. et al.* Little evidence for switches to environmental sex determination and turnover of sex chromosomes in lacertid lizards // *Sci. Rep.* 2019. V. 9. P. 7832.
<https://doi.org/10.1038/s41598-019-44192-5>
 19. *Прокопьев Я.В., Антропова Е.Ю., Мазитова М.И., Ключаров И.В.* XX-тестикулярная форма нарушения формирования пола: редкая форма мужского бесплодия. Клиническое наблюдение // *РМЖ.* 2019. № 11. С. 26–28.
 20. *Ogino Y., Tohyama S., Kohno S. et al.* Functional distinctions associated with the diversity of sex steroid hormone receptors ESR and AR // *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2018. V. 184. P. 38–46.
<https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2018.06.002>
 21. *Rajendiran P., Jaafar F., Kar S. et al.* Sex determination and differentiation in teleost: roles of genetics, environment, and brain // *Biology (Basel).* 2021. V. 10. P. 973.
<https://doi.org/10.3390/biology10100973>
 22. *Nakamura M., Kobayashi T., Chang X.-T., Nagahama Y.* Gonadal sex differentiation in teleost fish // *J. Exp. Zool.* 1998. V. 281. P. 362–372.
[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-010X\(19980801\)281:5<362::AID-JEZ3>3.0.CO;2-M](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-010X(19980801)281:5<362::AID-JEZ3>3.0.CO;2-M)
 23. *Yamamoto Y., Hattori R.S., Patiño R., Strüssmann C.A.* Environmental regulation of sex determination in fishes: insights from Atheriniformes // *Curr. Top. Dev. Biol.* 2019. V. 134. P. 49–69.
<https://doi.org/10.1016/bs.ctdb.2019.02.003>
 24. *Camerino G., Parma P., Radi O., Valentini S.* Sex determination and sex reversal // *Curr. Opin. Genet. Dev.* 2006. V. 16. № 3. P. 289–292.
<https://doi.org/10.1016/j.gde.2006.04.014>
 25. *Guerrero-Estévez S., Moreno-Mendoza N.* Sexual determination and differentiation in teleost fish // *Rev. Fish Biol. Fish.* 2009. V. 20. № 1. P. 101–121.
<https://doi.org/10.1007/s11160-009-9123-4>
 26. *Hattori R.S., Strüssmann C.A., Fernandino J. et al.* Genotypic sex determination in teleosts: insights from the testis-determining amhy gene // *Gen. Comp. Endocrinol.* 2013. V. 192. P. 55–59.
<https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2013.03.019>
 27. *Kobayashi Y., Nagahama Y., Nakamura M.* Diversity and plasticity of sex determination and differentiation in fishes // *Sex. Dev.* 2012. V. 7. № 1–3. P. 115–125.
<https://doi.org/10.1159/000342009>
 28. *Baroiller J.F., D’Cotta H., Saillant E.* Environmental effects on fish sex determination and differentiation // *Sex. Dev.* 2009. V. 3. № 2–3. P. 118–135.
<https://doi.org/10.1159/000223077>
 29. *Devlin R.H., Nagahama Y.* Sex determination and sex differentiation in fish: an over-view of genetic, physiological, and environmental influences // *Aquaculture.* 2002. V. 208. № 3–4. P. 191–364.
[https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00057-1](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00057-1)
 30. *Strüssmann C.A., Nakamura M.* Morphology, endocrinology, and environmental modulation of gonadal sex differentiation in teleost fishes // *Fish Physiol. Biochem.* 2002. V. 26. P. 13–29.
<https://doi.org/10.1023/A:1023343023556>
 31. *Mustapha U.F., Huang Y., Huang Y.-Q. et al.* Gonadal development and molecular analysis revealed the critical window for sex differentiation, and E2 reversibility of XY-male spotted scat, *Scatophagus argus* // *Aquaculture.* 2021. V. 544. Article 737147.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737147>
 32. *Hsiao C.-D., Tsai H.-J.* Transgenic zebrafish with fluorescent germ cell: A useful tool to visualize germ cell proliferation and juvenile hermaphroditism *in vivo* // *Dev. Biol.* 2003. V. 262. P. 313–323.
[https://doi.org/10.1016/S0012-1606\(03\)00402-0](https://doi.org/10.1016/S0012-1606(03)00402-0)
 33. *Wu G.-C., Chang C.-F.* Primary males guide the femaleness through the regulation of testicular Dmrt1 and ovarian Cyp19a1a in protandrous black porgy // *Gen. Comp. Endocrinol.* 2018. V. 261. P. 198–202.
<https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2017.01.033>
 34. *Tang Y., Chen J.-Y., Ding G.-H., Lin Z.-H.* Analyzing the gonadal transcriptome of the frog *Hoplobatrachus rugulosus* to identify genes involved in sex development // *BMC Genomics.* 2021. V. 22. P. 552.
<https://doi.org/10.1186/s12864-021-07879-6>
 35. *Mendoza-Cruz E., Moreno-Mendoza N., Zambrano L., Villagrán-SantaCruz M.* Development and gonadal sex differentiation in the neotenic urodele: *Ambystoma mexicanum* // *Zoomorphology.* 2017. V. 136. P. 497–509.
<https://doi.org/10.1007/s00435-017-0361-z>
 36. *Lambert M.R., Tran T., Kilian A. et al.* Molecular evidence for sex reversal in wild populations of green frogs (*Rana clamitans*) // *PeerJ.* 2019. V. 7. P. e6449.
<https://doi.org/10.7717/peerj.6449>
 37. *Flament S.* Sex reversal in amphibians // *Sex. Dev.* 2016. V. 10. № 5–6. P. 267–278.
<https://doi.org/10.1159/000448797>
 38. *Oike A., Kodama M., Yasumasu S. et al.* Participation of androgen and its receptor in sex determination of an amphibian species // *PLoS One.* 2017. V. 12. № 6. P. e0178067.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178067>
 39. *Roco Á.S., Ruiz-García A., Ballejos M.* Testis development and differentiation in amphibians // *Genes.* 2021. V. 12. P. 578.
<https://doi.org/10.3390/genes12040578>
 40. *Valenzuela N., Badenhorst D., Montiel E.E., Literman R.* Molecular cytogenetic search for cryptic sex chromosomes in painted turtles *Chrysemys picta* // *Cytogenet. Genome Res.* 2014. V. 144. № 1. P. 39–46.
<https://doi.org/10.1159/000366076>
 41. *Pieau C., Dorizzi M., Richard-Mercier N.* Temperature-dependent sex determination and gonadal differentiation in reptiles // *Genes and Mechanisms in Vertebrate Sex Determination* / Eds Scherer G., Schmid M. Switzerland: Birkhäuser Verlag Basel, 2001. P. 117–141.
 42. *Merchant-Larios H., Díaz-Hernández V.* Environmental sex determination mechanisms in reptiles // *Sex. Dev.* 2012. V. 7. № 1–3. P. 95–103.
<https://doi.org/10.1159/000341936>
 43. *Georges A., Holleley C.E.* How does temperature determine sex? // *Science.* 2018. V. 360. № 6389. P. 601–602.
<https://doi.org/10.1126/science.aat5993>

44. *Glersberg M.F., Kemper N.* Rearing male layer chickens: A German perspective // *Agriculture*. 2018. V. 8. P. 176. <https://doi.org/10.3390/agriculture8110176>
45. *Singh L., Wadhwa R., Naidu S. et al.* Sex- and tissue specific Bkm (GATA)-binding protein in the germ cells of heterogametic sex // *J. Biol. Chem.* 1994. V. 269. № 41. P. 25321–25327.
46. *Смирнов А.Ф., Трухина А.В.* Молекулярно-генетические механизмы детерминации пола у животных. СПб: Нестор-История, 2016. 168 с.
47. *Elbrecht A., Smith R.G.* Aromatase enzyme activity and sex determination in chickens // *Science*. 1992. V. 255. № 5043. P. 467–470. <https://doi.org/10.1126/science.1734525>
48. *Vaillant S., Guémené D., Dorizzi M. et al.* Degree of sex reversal as related to plasma steroid levels in genetic female chickens (*Gallus domesticus*) treated with Fadrozole // *Mol. Rep. Dev.* 2003. V. 65. № 4. P. 420–428. <https://doi.org/10.1002/mrd.10318>
49. *Fazli N., Hassanabadi A., Mottaghtalab M., Hajati H.* Manipulation of broiler chickens sex differentiation by in ovo injection of aromatase inhibitors, and garlic and tomato extracts // *Poult. Sci.* 2015. V. 94. № 11. P. 2778–2783. <https://doi.org/10.3382/ps/pev236>
50. *Yang X., Zheng J., Na R. et al.* Degree of sex differentiation of genetic female chicken treated with different doses of an aromatase inhibitor // *Sex. Dev.* 2008. V. 2. № 6. P. 309–315. <https://doi.org/10.1159/000195680>
51. *Yang X., Zheng J., Qu L. et al.* Methylation status of cMHM and expression of sex-specific genes in adult sex-reversed female chickens // *Sex. Dev.* 2011. V. 5. № 3. P. 147–154. <https://doi.org/10.1159/000327712>
52. *Yang X., Deng J., Zheng J. et al.* A Window of MHM demethylation correlates with key events in gonadal differentiation in the chicken // *Sex. Dev.* 2016. V. 10. № 3. P. 152–158. <https://doi.org/10.1159/000447659>
53. *Mohammadrezaei M., Toghiani M., Gheisari A. et al.* Synergistic effect of fadrozole and insulin-like growth factor-I on female-to-male sex reversal and body weight of broiler chicks // *PLoS One*. 2014. V. 9. № 7. P. e103570. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103570>
54. *Трухина А.В., Лукина Н.А., Смирнов А.Ф.* Гормональная инверсия пола и некоторые аспекты его генетической детерминации у курицы // *Генетика*. 2018. Т. 54. № 9. С. 1047–1056.
55. *Estermann M.A., Major A.T., Smith C.A.* Gonadal sex differentiation: Supporting versus steroidogenic cell lineage specification in mammals and birds // *Front. Cell Dev. Biol.* 2020. V. 8. Article 616387. P. 1–10. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.616387>
56. *Abinawanto, Zhang C., Saito N. et al.* Identification of sperm-bearing female-specific chromosome in the sex-reversed chicken // *J. Exp. Zool.* 1998. V. 280. № 2. P. 65–72. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-010x\(19980101\)280:1<65::aid-jez8>3.0.co;2-f](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-010x(19980101)280:1<65::aid-jez8>3.0.co;2-f)
57. *Takagi S., Ono T., Tsukada A. et al.* Fertilization and blastoderm development of quail oocytes after intracytoplasmic injection of chicken sperm bearing the W chromosome // *Poult. Sci.* 2007. V. 86. № 5. P. 937–943. <https://doi.org/10.1093/ps/86.5.937>
58. *Ellis H.L., Shioda K., Rosenthal N.F. et al.* Masculine epigenetic sex marks of the cyp19a1/aromatase promoter in genetically male chicken embryonic gonads are resistant to estrogen-induced phenotypic sex conversion // *Biol. Reprod.* 2012. V. 87. № 1. P. 1–12. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.112.099747>
59. *Major A.T., Smith C.A.* Sex reversal in birds // *Sex. Dev.* 2016. V. 10. P. 288–300. <https://doi.org/10.1159/000448365>
60. *Morris K.R., Hirst C.E., Major A.T. et al.* Gonadal and endocrine analysis of a gynandromorphic chicken // *Endocrinology*. 2018. V. 159. № 10. P. 3492–3502. <https://doi.org/10.1210/en.2018-00553>
61. *Estermann M.A., Major A.T., Smith C.A.* Genetic regulation of avian testis development // *Genes*. 2021. V. 12. P. 1459. <https://doi.org/10.3390/genes12091459>
62. *Lambeth L.S., Cummins D.M., Doran T.J. et al.* Overexpression of aromatase alone is sufficient for ovarian development in genetically male chicken embryos // *PLoS One*. 2013. V. 8. № 6. P. e68362. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0068362>
63. *Vining B., Ming Z., Bagheri-Fam S. et al.* Diverse regulation but conserved function: SOX9 in vertebrate sex determination // *Genes*. 2021. V. 12. P. 486. <https://doi.org/10.3390/genes12040486>
64. *Smith C.A., Roeszler K.N., Ohnesorg T. et al.* The avian Z-linked gene DMRT1 is required for male sex determination in the chicken // *Nature*. 2009. V. 461. № 7261. P. 267–271. <https://doi.org/10.1038/nature08298>
65. *Lambeth L.S., Morris K.R., Wise T.G. et al.* Transgenic chickens overexpressing aromatase have high estrogen levels but maintain a predominantly male phenotype // *Endocrinology*. 2016. V. 157. № 1. P. 83–90. <https://doi.org/10.1210/en.2015-1697>
66. *Wang J., Gong Y.* Transcription of CYP19A1 is directly regulated by SF-1 in the theca cells of ovary follicles in chicken // *Gen. Comp. Endocrinol.* 2017. V. 247. P. 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2017.03.013>
67. *Jin K., Zuo Q., Song J. et al.* CYP19A1 (aromatase) dominates female gonadal differentiation in chicken (*Gallus gallus*) embryos sexual differentiation // *Biosci. Rep.* 2020. V. 40. № 10. P. BSR20201576. <https://doi.org/10.1042/BSR20201576>
68. *Hung T., Chang H.Y.* Long noncoding RNA in genome regulation: prospects and mechanisms // *RNA Biol.* 2010. V. 7. № 5. P. 582–585. <https://doi.org/10.4161/rna.7.5.13216>
69. *Yoon J.-H., Abdelmohsen K., Gorospe M.* Posttranscriptional gene regulation by long noncoding RNA // *J.*

- Mol. Biol. 2013. V. 425. № 19. P. 3723–3730.
<https://doi.org/10.1016/j.jmb.2012.11.024>
70. Huang Sh., Ye L., Chen H. Sex determination and maintenance: the role of DMRT1 and FOXL2 // Asian J. Androl. 2017. V. 19. № 6. P. 619–624.
<https://doi.org/10.4103/1008-682X.194420>
71. Ioannidis J., Taylor G., Zhao D. et al. Primary sex determination in birds depends on DMRT1 dosage, but gonadal sex does not determine adult secondary sex characteristics // PNAS. 2021. V. 118. № 10. P. e2020909118.
<https://doi.org/10.1073/pnas.2020909118>
72. Clinton M., Zhao D., Nandi S., McBride D. Evidence for avian cell autonomous sex identity (CASI) and implications for the sex-determination process? // Chromosome Res. 2012. V. 20. № 1. P. 177–190.
<https://doi.org/10.1007/s10577-011-9257-9>
73. Piferrer F., Anastasiadi D. Do the offspring of sex reversals have higher sensitivity to environmental perturbations? // Sex. Dev. 2021. № 15. P. 134–147.
<https://doi.org/10.1159/000515192>
74. Smith C.A., Major A.T., Esterman M.A. The curious case of avian sex determination // Trends Genet. 2021. V. 37. № 6. P. 496–497.
75. Smith C.A., Major A.T., Estermann M.A. Chicken, sex and revisiting an old paradigm // Endocrinology. 2021. V. 162. № 7. P. bqab106.
<https://doi.org/10.1210/endo/bqab106>
76. Shioda K., Odajima J., Kobayashi M. et al. Transcriptional and epigenetic preservation of genetic sex identity in estrogen – feminized male chicken embryonic gonads // Endocrinology. 2021. V. 162. № 1. P. bqaa208.
<https://doi.org/10.1210/endo/bqaa208>
77. Aslam M.L., Woelders H. Steroid hormones and female energy balance: Relation to offspring primary sex ratio // Egg Innovations and Strategies for Improvements. United States: Acad. Press, 2017. P. 47–54.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800879-9.00005-6>
78. Wrobel E.R., Molina E., Khan N. et al. Androgen and mineralocorticoid receptors are present on the germinal disc region in laying hens: Potential mediators of sex ratio adjustment in birds? // Gen. Comp. Endocrinol. 2019. V. 287. № 2. P. 113353.
<https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2019.113353>
79. Pinson S.E., Wilson J.L., Navara K.J. Timing matters: Corticosterone injections 4 h before ovulation bias sex ratios towards females in chickens // J. Comp. Physiol. B. 2015. V. 185. № 5. P. 539–546.
<https://doi.org/10.1007/s00360-015-0897-5>
80. Bruggeman V., As P.V., Decuypere E. Developmental endocrinology of the reproductive axis in the chicken embryo // Comp. Biochem. Physiol. Part A, Mol. Integr. Physiol. 2002. V. 131. № 4. P. 839–846.
[https://doi.org/10.1016/S1095-6433\(02\)00022-3](https://doi.org/10.1016/S1095-6433(02)00022-3)
81. Teranishi M., Shimada Y., Hori T. et al. Transcripts of the MHM region on the chicken Z chromosome accumulate as non-coding RNA in the nucleus of female cells adjacent to the DMRT1 locus // Chromosome Res. 2001. V. 9. № 2. P. 147–165.
<https://doi.org/10.1023/a:1009235120741>
82. Geffroy B., Douhard M. The adaptive sex in stressful environment // Trends Ecol. Evol. 2019. V. 34. № 7. P. 628–640.
<https://doi.org/10.1016/j.tree.2019.02.012>
83. Sánchez L., Chaouiya C. Logical modelling uncovers developmental constraints for primary sex determination of chicken gonads // J. R. Soc. Interface. 2018. V. 15. P. 20180165.
<https://doi.org/10.1098/rsif.2018.0165>
84. Kuroiwa A. Sex-determining mechanism in avians // Adv. Exp. Med. Biol. 2017. V. 1001. P. 19–31.
https://doi.org/10.1007/978-981-10-3975-1_2
85. Hirst C.E., Major A.T., Smith C.A. Sex determination and gonadal sex differentiation in the chicken model // Int. J. Dev. Biol. 2018. V. 62. № 1–2–3. P. 153–166.
<https://doi.org/10.1387/ijdb.170319cs>
86. Bellott D.W., Skaletsky H., Cho T.J. et al. Avian W and mammalian Y chromosomes convergently retained dosage-sensitive regulators // Nat. Genet. 2017. V. 49. № 3. P. 387–394.
<https://doi.org/10.1038/ng.3778>
87. Komissarov A.S., Galkina S.A., Koshelev E.I. et al. New high copy tandem repeat in the content of the chicken W chromosome // Chromosoma. 2018. V. 127. № 1. P. 73–83.
<https://doi.org/10.1007/s00412-017-0646-5>
88. Liu L., Fan Y., Zhao D. et al. Expression profile of chicken sex chromosome gene *BTF3* is linked to gonadal phenotype // Sex. Dev. 2019. V. 13. № 4. P. 212–220.
<https://doi.org/10.1159/000506344>
89. Xu L., Zhou Q. The female-specific W chromosomes of birds have conserved gene contents but are not feminized // Genes. 2020. V. 11. P. 1126.
<https://doi.org/10.3390/genes11101126>
90. Rogers T.F., Pizzari T., Wright A.E. Multi-copy gene family evolution on the avian W chromosome // Heredity. 2021. V. 112. № 3. P. 250–259.
<https://doi.org/10.1093/jhered/esab016>
91. Sun C., Jin K., Zhou J. et al. Role and function of the *HintW* in early sex differentiation in chicken (*Gallus gallus*) embryo // Anim. Biotechnol. 2021. P. 1–11.
<https://doi.org/10.1080/10495398.2021.1935981>
92. Jin K., Zhou J., Zuo Q. et al. UBE2I stimulates female gonadal differentiation in chicken (*Gallus gallus*) embryos // J. Integr. Agric. 2021. V. 20. P. 2–10.
[https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(20\)63486-4](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(20)63486-4)
93. Kinsella C.M., Ruiz-Ruano F.J., Dion-Côté A.M. et al. Programmed DNA elimination of germline development genes in songbirds // Nat. Commun. 2019. V. 10. P. 5468.
<https://doi.org/10.1038/s41467-019-13427-4>
94. Ezaz T., Deakin J.E. Repetitive sequence and sex chromosome evolution in vertebrates // Adv. Evol. Biol. 2014. Article ID: 104683. 9 p.
<https://doi.org/10.1155/2014/104683>
95. Nagahama Y., Chakraborty T., Paul-Prasanth B. et al. Sex determination, gonadal sex differentiation and plasticity in vertebrate species // J. Physiol. Rev. 2020. P. 213.
<https://doi.org/10.1152/physrev.00044.2019>

Natural and Experimental Sex Reversal in Birds and Other Groups of Vertebrates, Except Mammals

A. F. Smirnov^a, D. Yu. Leoke^b, and A. V. Trukhina^{a, *}

^a*Saint-Petersburg State University, Saint-Petersburg, 199034 Russia*

^b*Biological Station "Rybachy" of Zoological Institute of Russian Academy of Sciences,
Kaliningrad Region, p. Rybachii, 238535 Russia*

**e-mail: trukhina_ant@mail.ru*

The article is devoted to the actual problem – the phenomenon of sex determination. Many scientific articles have been published on this problem, but all the details of its mechanisms have not yet been disclosed, since they are very diverse. The article summarizes the new material obtained in the study of cases of natural and experimental sex reversal in vertebrates. Representatives of cold-blooded vertebrates (fish, amphibians, reptiles) and warm-blooded (birds) are considered. Sex reversal that occurs both in natural conditions and under experimental conditions can be the result of genetic disorders that manifest themselves in the early stages of embryonic development, and normal changes that occur in sexually mature animals under the control of the neuroendocrine system. It is assumed that sex reversal and sex determination may be interrelated phenomena. Particular attention is paid to inversion and determination of sex in birds; works on experimental sex reversal in these animals are considered in detail. For this, the data of scientific works on the relationship between the phenotypic manifestation of sex at the cellular, tissue and organ levels, its chromosomal and hormonal determination, as well as genetic and epigenetic control are summarized. At the end of the article, promising directions in the study of natural and experimental sex inversion in vertebrates are proposed.

Keywords: sex determination, sex reversal, genetic control, epigenetic control, hormonal sex determination, Vertebrates.