

# Особенности пролиферации и митотических циклов в эмбриогенезе

Тема V

## **Общая характеристика эмбрионов ранних стадий развития (от оплодотворения до гаструлы)**

В самой общей форме раннее развитие можно определить как увеличение клеточности и подготовку к включению зиготической программы развития. Развитие всегда начинается серией быстро следующих друг за другом синхронных делений дробления.

**О поверхностном «дроблении» у насекомых.** *Особое положение в этом отношении занимают насекомые, так как у их зародышей в это время проходят только деления ядер без цитокинеза. Может быть поставлен вопрос, следует ли называть этот период онтогенеза Insecta дроблением.*

Никаких видимых изменений, кроме увеличения числа клеток (ядер) у зародыша в этот период не происходит. Структура клеток остается очень простой. Развитие в этот период совершается *за счет запасов пластических, энергетических и регуляторных компонентов, накопленных еще в онтогенезе* и, таким образом, протекает под **очевидным влиянием материнского организма**. Например, ядерных белков и материала ядерной оболочки с избытком хватает на обеспечение ими зародышей в несколько тысяч клеток (12 МЦ). То же самое можно сказать и о предшественниках ДНК, митотического аппарата, молекул РНК и т.п. Постепенно в ходе развития эти запасы истощаются.

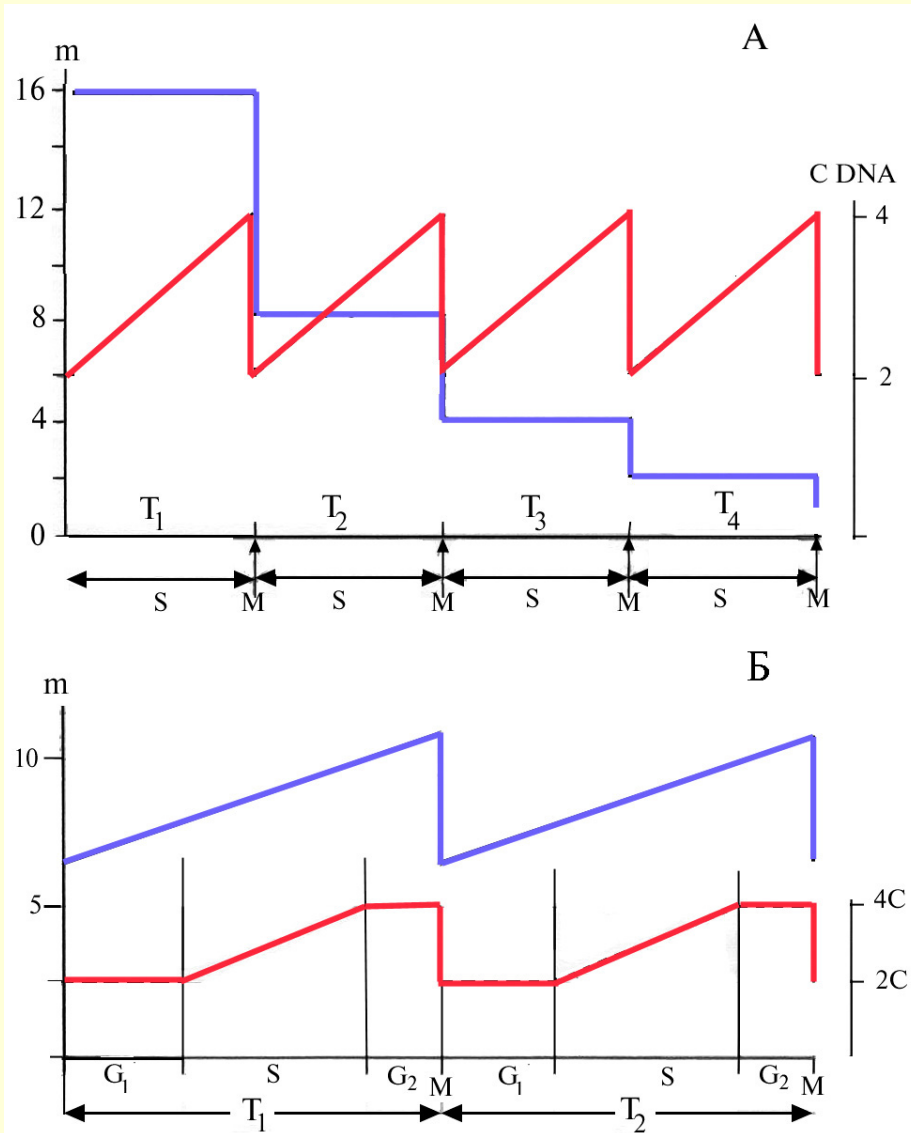
Транскрипция генома очень слабая или вообще не регистрируется; синтез белка идет на матрицах, запасенных в оогенезе, поэтому ингибиторы синтеза РНК не подавляют ни делений дробления, ни другие процессы в этот период. По признаку наличия собственного роста клетки ранее дробление носит выраженные черты палинтомии (★ слайд). *Регуляция* основных процессов носит *автономный* и *эндогенный* характер. Благодаря ооплазматической сегрегации в это время в основном происходит перераспределение между бластомерами запасенных в оогенезе субстанций и регулирующих факторов.

### **Особенности митотических циклов в раннем дроблении.**

*Исключительная частота делений клеток* связана с коротким митотическим циклом ( $T_c$ ), что объясняют максимальной готовностью системы обеспечения. Особое положение занимает первый после оплодотворения митотический цикл, он всегда существенно продолжительнее. Многие связывают это с подготовкой и совершением кариогамии в первом цикле зиготы. Система зародыша во время первых МЦ работает в максимально напряженном режиме.  $T_c$  очень часто находится в пределах от 1 до 1,5 часов, но иногда составляет всего лишь несколько минут (*Drosophila* – 9 мин; *Danio rerio* – 15 мин) таблица ★

**Синхронность делений клеток.** Одинакова ли длительность циклов всего синхронного периода дробления? У *Danio* это, действительно, так, но, напри-

# Дробление – палинтомический процесс



Характерной особенностью митотических циклов в период дробления является отсутствие компенсирующего роста клетки (бластомера) в интерфазе, что обычно связывают с выпадением постмитотической фазы  $G_1$ . В результате дочерняя клетка приступает к следующему делению, будучи в два раза меньше исходной (материнской) клетки. Подобный процесс называется **палинтомией**; при этом происходит именно «дробление» или **уменьшение размеров клетки вдвое**. Митотические циклы такого типа называют **палинтомическими** (А), в отличие от **монотомических** МЦ, при которых дочерние клетки к моменту митоза дорастают до размеров материнской клетки (Б).

мер, у пиявки *Helobdella triserialis* AB = 125 мин; CD = 110 мин; D = 85 мин, а у *телобластов* и того меньше, 60 минут. Следовательно период синхронного дробления может быть и очень непродолжительным, или его вовсе может не быть, как это имеет место у нематод и млекопитающих, у которых с самого начала развития МЦ имеют значительную и разную у различных клеток продолжительность (★ таблица).

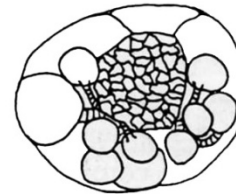
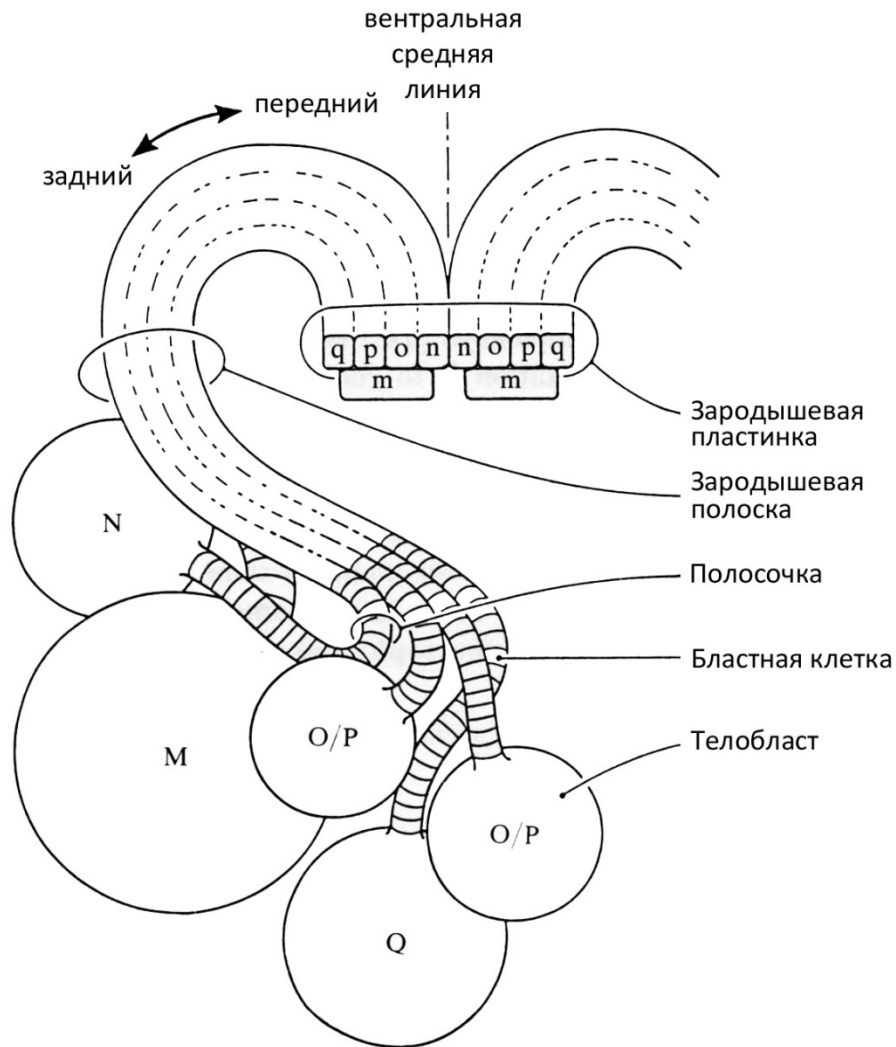
**Синхронность делений клеток.** Одинакова ли длительность циклов всего периода дробления? У *Danio* это, действительно, так, но, например, у *Helobdella triserialis* AB = 125 мин; CD = 110 мин; D = 85 мин, а у *телобластов* и того меньше, 60 минут. Следовательно период синхронного дробления может быть и очень непродолжительным, или его вовсе может не быть, как это имеет место у нематод и млекопитающих, у которых с самого начала развития МЦ имеют значительную и разную у разных клеток продолжительность (★ таблица)

**О структуре митотических циклов в период дробления.** Укоренившееся с подачи S. Gilbert'a представление о неперемной двухфазности МЦ в период дробления не соответствует действительности. Смотри данные по дроблению у пиявки.

**Отсутствие различимой фазы G<sub>1</sub>.** Это не удивительно при палинтомии. Для эмбрионов почти всех животных кроме млекопитающих и нематод это правило. Но такие МЦ присущи не только зародышам, но и другим клеточным системам: Микронуклеус у *Tetrachytena*; Ядра слизевого гриба *Physarum*; Амёба Линия клеток китайского хомячка ЗТЗ.

**Абсолютная и относительная продолжительность S-фазы.** Очень непродолжительная S-фаза (менее 9 мин у *Drosophila*; у *Strongylocentrotus droebachiensis*

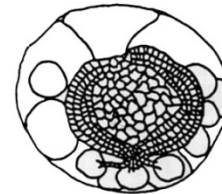
# Развитие телобластов пиявки *Helobdella triserialis*



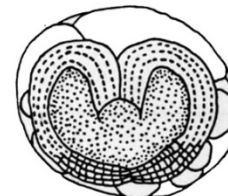
Стадия 7 (ранняя)



Стадия 8 (поздняя)



Стадия 7 (средняя)

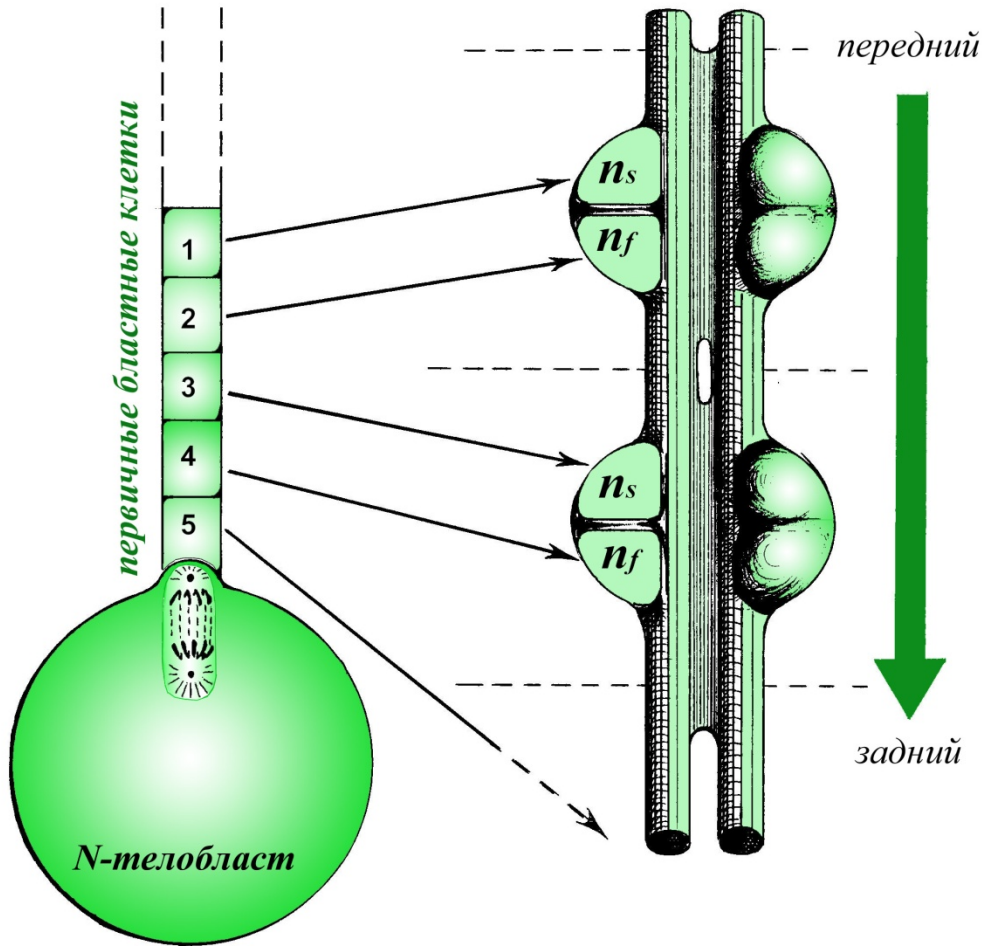


Стадия 8 (ранняя)



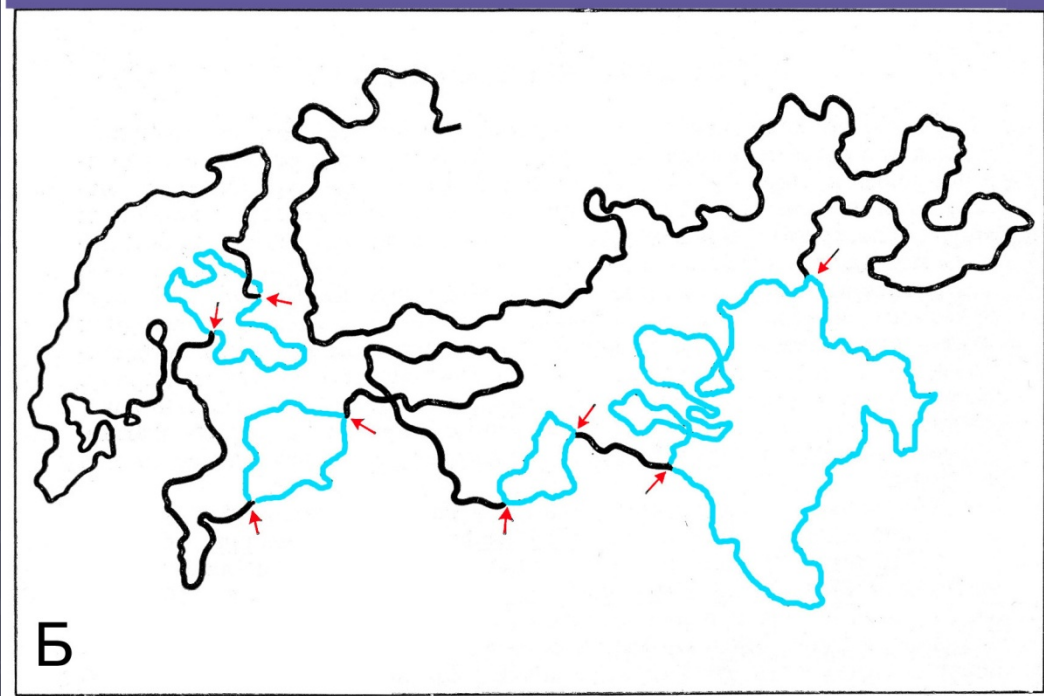
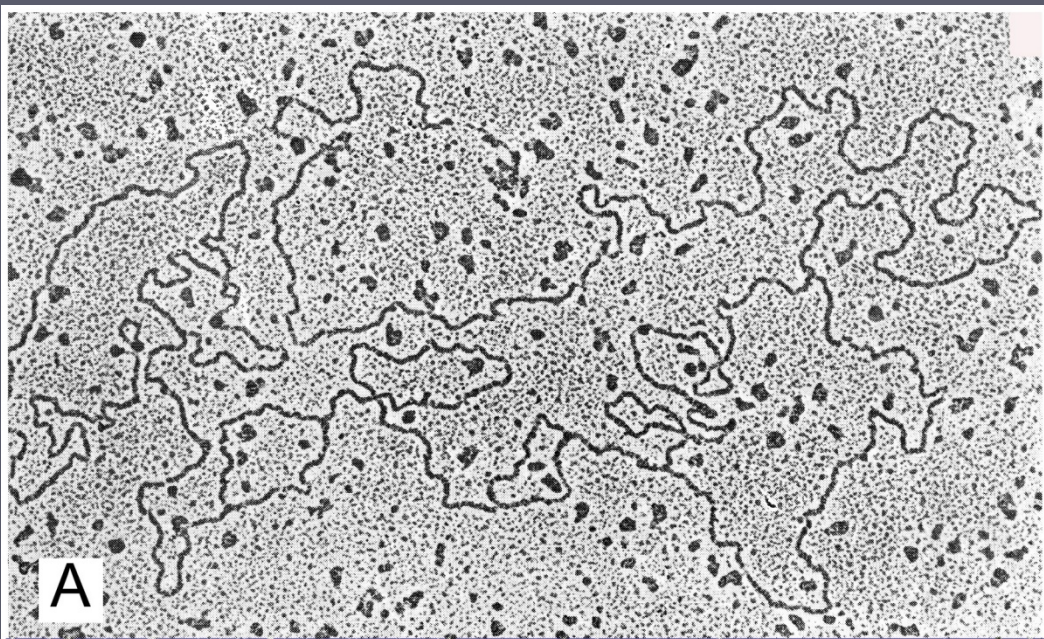
Стадия 10

# N-телобласт и его клеточные линии



В N и Q клеточных линиях для создания комплекта одного сегмента нужны две бластные клетки. Одна первичная бластная клетка производит нейроны ганглия и эпидермальные клетки передней части сегмента ( $n_s$ ), тогда как клетка, идущая в полосочке следом, дает начало задним нейронам ганглия ( $n_f$ ), небольшому числу периферических нейронов и глиальной клетке.





- ▶ (А) микрофотография. Удвоение хромосомы в яйце *Drosophila* – ключевое событие S-фазы. Спутанная нить – ДНК удваивающихся хромосом.
- ▶ На схеме (Б) верхней микрофотографии показаны четыре участка (репликоны), в которых начинается процесс репликации ДНК; стрелки показывают на **вилки репликации**.



– **110** мин при +5° С). Ещё короче (не более 5 мин) S-фаза в раннем дроблении ядер у Дрозофилы. Причины короткой S-фазы кроются не в увеличении скорости процесса репликации, а в: *синхронности* (одновременности) *инициации репликации* в хромосомном наборе и по длине хромосомы; *измельчанию и увеличению количества репликонов* (Дж. Уотсон)

**Репликация ДНК и проблема репликона.** Процесс репликации ДНК разделяют на стадии: *инициации, элонгации и терминации*. Хромосомы высших организмов представляют собой комплексы линейных ДНК и белков с несколькими уровнями пространственной организации. Репликация ДНК в таких хромосомах происходит одновременно на многих участках. Один такой участок, имеющий одну точку инициации и реплицирующийся до соприкосновения с другим таким участком, называют **репликоном**. Говоря иными словами, **репликон** – участок ДНК, реплицирующийся в результате одного акта инициации. При этом образуются т.н. **вилки репликации**. Репликация от *ориджина* (origin) может идти в одном направлении и при этом возникает одна вилка репликации (насекомые, амфибии, млекопитающие и некоторые вирусы) или в двух направлениях при двух вилках репликации. Последний вариант встречается чаще (★ слайд по Д.Мэзия). **Вывод: Синхронность процессов – наиболее эффективное средство их ускорения в целом.**

Большое разнообразие в отношении  $G_2$ :  $G_2$  не определяются у *полихет, иглокожих*;  $G_2$  – короткий у *моллюсков* – 21/83 (25 %),  $G_2$  – пропорциональный: у *рыб (вьюн)* – 10/30 (33%) и *амфибий* – 25/80 (33%).  $G_2$  – значителен: у *ракообразных* – 40/90 (50%), *пиявок* (66%).

**О доле митоза в цикле.** Абсолютная длительность митоза очень сильно варьирует и зависит от температуры. Например, у *рыб* от 4,7 мин (при + 21°С) до 146 мин (при + 4°С).

значительное удельное значение длительности митоза в цикле объясняется небольшой продолжительностью других фаз цикла. Так, митоз занимает 28% у пиявок; у рыб, амфибий и дрозофилы  $t_m$  составляет половину митотического цикла. У полихет доля митоза в циклах дробления достигает 75 %.

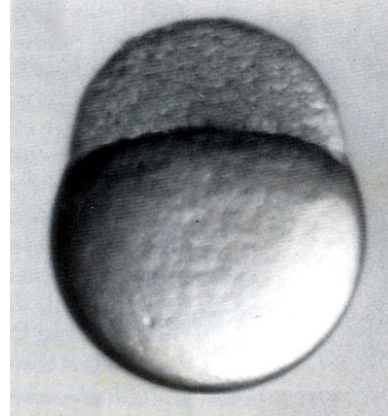
**Период трансформации (МВТ) в раннем эмбриогенезе** . У амфибий и Teleostei это, как правило, стадия поздней бластулы.

**Общая характеристика этого периода развития.** Происходит подразделение клеточных совокупностей на *поверхностные* и *внутренние*. Появляется бластоцель, полость, отделяющая анимальные слои клеток от «вегетативного основания»; зародыш приобретает **характерные черты бластулы**. Начинается *«морфогенетическая активность»* ядер зиготы с активированием отцовских аллелей, выражающаяся в активации транскрипции. Начинается **морфогенетическая активность клеток**. Она связана с изменениями (поляризацией) поверхности, появлением рецепторного аппарата и выражается в проявлении мобильности и в *избирательной адгезивности*.

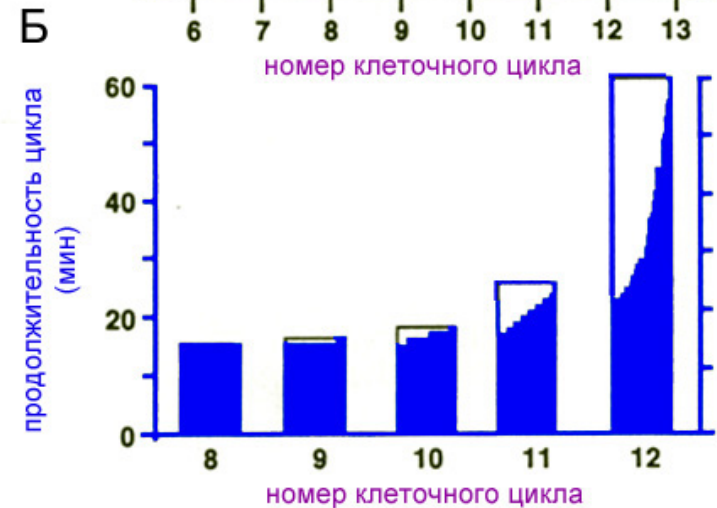
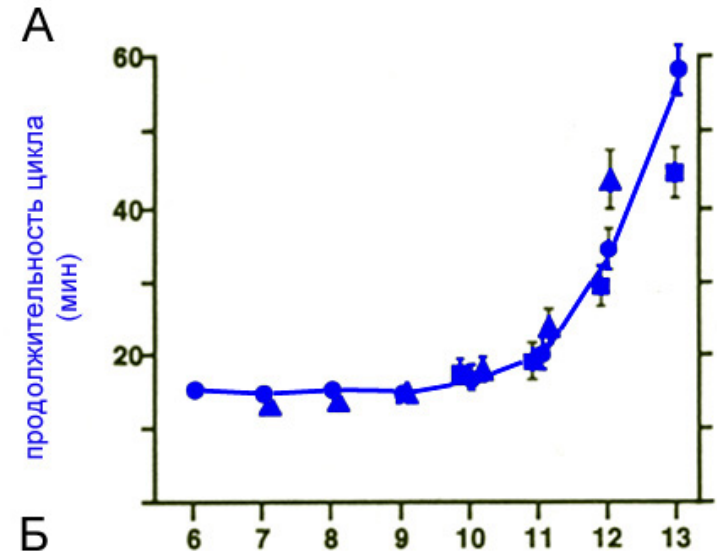
Позднее, на стадиях нейруляции или раннего органогенеза всё большая часть клеток выходит из клеточного цикла и переходит в состояние  $G_0$  . Вместе с тем в отдельных участках зародышей сохраняется интенсивный уровень пролиферации. В других участках клетки проявляют признаки специализации, характерные для дифференцирующихся тканей и начинают выполнять свои функции, обретенные в состоянии покоя. Такие клетки обычно называют терминально дифференцированными клетками. ★ ★ ★

# Средне-бластульный переход (midblastula transition) в развитии *Danio rerio*

На стадиях ранней бластулы клетки продолжают делиться синхронно с интервалом в 15 минут. Точнее, дробление в это время является «метасинхронным», поскольку не все митозы совершаются в одно время, а появляются в виде волны, пересекающей



бластодерму в конце каждого митотического цикла. Когда сформируется перибласт, начиная с 10-го м.ц., зародыш костистых рыб переживает т.н. «средне-бластульный переход» (midblastula transition), во время которого происходит удлинение митотического цикла, сопровождающееся утратой синхронности делений (графики А и Б), активация транскрипции (начало морфогенетической функции ядер) и приобретение клетками подвижности. Полагают, что сигналом к началу событий этой трансформации служит стабилизация ядерно-цитоплазматического отношения в клетках зародыша.



## Изменения МЦ в раннем эмбриогенезе.

Всё многообразие форм трансформации митотических циклов у представителей различных групп животных, в общем, можно свести к нескольким элементарным актам, среди которых можно выделить следующие.

1. Резкое **увеличение продолжительности фазы S**. Так, у морского ежа *S. droebachyensis* в основе более, чем 20-кратного увеличения  $T_c$  (от стадии дробления до гаструлы) лежит, главным образом, увеличение длительности S. У *Xenopus*  $t_s$  на стадии нейрулы возрастает в 30 раз по сравнению с дроблением, то же наблюдается и у аксолотля, в раннем развитии полихет, моллюсков и насекомых. У колорадского жука, например, переход от синхронных делений к стадии бластодермы (2 000 ядер) сопровождается увеличением цикла на 180 минут (3 часа), из которых 110 минут, т.е. более 60% обеспечивается увеличением фазы S. На долю  $G_2$  приходится лишь 33%, а на митоз – 6 % прироста. В этот период фаза  $G_1$  вообще отсутствует, а когда появляется (8000 ядер) даёт лишь 3% прироста. Свою стабильность S приобретает, по-видимому, главным образом в сложившихся тканевых системах. Возможно, исключением являются птицы. Подобное возрастание времени репликации ДНК генома клетки связывают с одной стороны с общей десинхронизацией процесса, а с другой – с укрупнением и уменьшением числа репликонов в хромосомах. В основе более, чем 20-кратного увеличения  $T_c$  (от стадии дробления до гаструлы) лежит, главным образом, увеличение длительности S. У *Xenopus*  $t_s$  на стадии нейрулы возрастает в 30 раз по сравнению с дроблением, то же наблюдается и у аксолотля, в раннем развитии полихет, моллюсков и насекомых. У колорадского жука, например, переход от синхронных делений к стадии бластодермы (2 000 ядер) сопровождается увеличением цикла на 180 минут (3 часа), из которых 110 минут, т.е. более 60% обеспечивается увеличением фазы S. \*\*\*

На долю  $G_2$  приходится лишь 33%, а на митоз – 6 % прироста. В этот период фаза  $G_1$  вообще отсутствует, а когда появляется (8000 ядер) даёт лишь 3% прироста. Свою стабильность  $S$  приобретает, по-видимому, главным образом в сложившихся тканевых системах. Возможно, исключением являются птицы. Подобное возрастание времени репликации ДНК генома клетки связывают с одной стороны с общей десинхронизацией процесса, а с другой – с укрупнением и уменьшением числа репликонов в хромосомах.

2. Влияние изменений **продолжительности  $G_2$**  на частоту клеточных делений. Большое значение такой тип регуляции МЦ имеет в эмбриогенезе **полихет** и **моллюсков**, а из вторичноротых у **амфибий**.

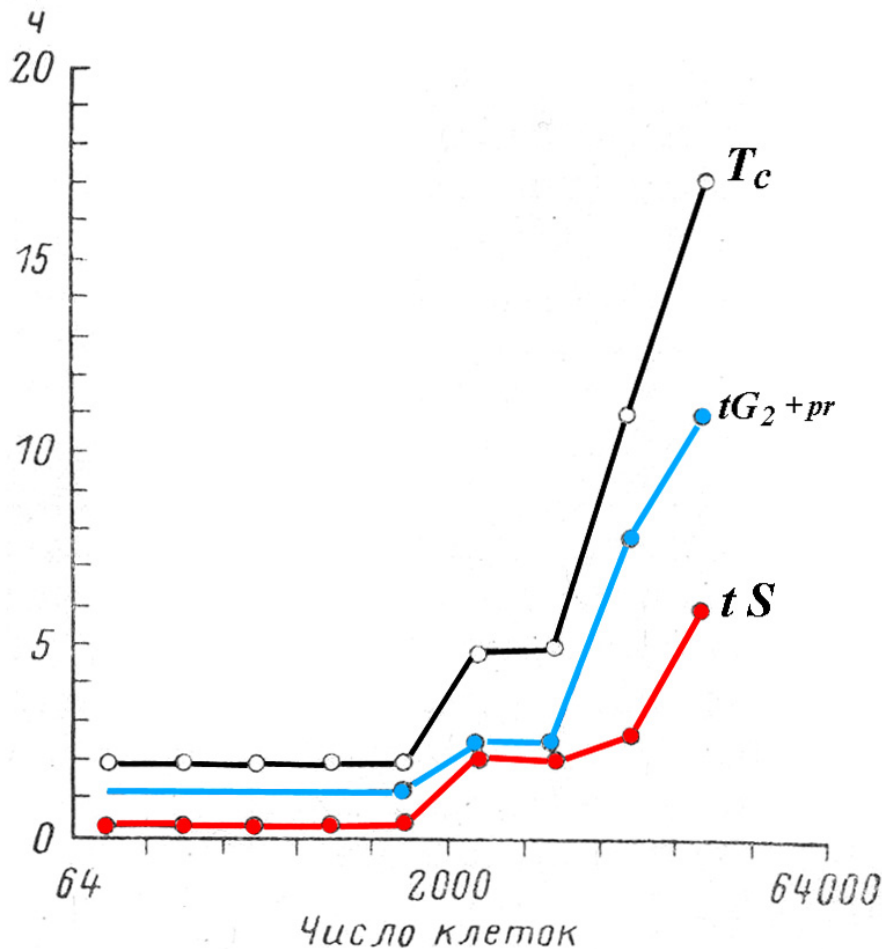
3. Появление и нарастание **продолжительности фазы  $G_1$**  наступает относительно поздно, часто после завершения или в ходе гастрюляции. Во многих случаях появление пресинтетического периода приходится на момент сегрегации клеточных линий, которому предшествует процесс коммитирования (детерминации). Например, в МЦ вторичных бластных клеток, потомков телобластов разных линий (мезодермальных, нейральных) у **пиявок**. С момента появления в цикле пресинтетической фазы регуляция пролиферации осуществляется, в основном, за счет изменения этой фазы. Клеточный цикл приобретает черты, характерные для **монотомического**, т.н. (соматического) цикла.

# Эмбриональная трансформация МЦ

Динамика МТ в эмбриогенезе колорадского жука (*Leptinotarsa decem-lineata*)

С началом образования бластодермы (стадия 2000 ядер) длительность митотического цикла возрастает в 2,5 раза, и более, чем в 6 раз, удлиняется фаза S.

Следующий этап резкого снижения пролиферативной активности начинается на стадии 8000 ядер





Последовательный мц	клетки	T <sub>c</sub>	G <sub>1</sub>	S	G <sub>2</sub>	M
1-й цикл	Зигота (AB и CD)	140 мин (2 ч 20 мин)	-	10 мин (7,1 %)	90 мин (64,2 %)	40 мин (28,6 %)
2-й цикл	CD	110 мин	-	10 мин (9,1 %)	70 мин (63,6 %)	30 мин (27,3 %)
2-й цикл	AB	125 мин	-	15 мин (12 %)	80 мин (64 %)	30 мин (24,0 %)
3-й цикл	бластомер D	85 мин	-	15 мин (17,6 %)	45 мин (52,9 %)	25-30 (35,3 %)
3-й цикл	A, B и C	120 мин	-	15 мин (12,5 %)	75 мин (62,5 %)	25-30 (25,0%)
	<b>телобласты</b>	<b>60 мин</b>	<b>-</b>	<b>11 мин (18,3 %)</b>	<b>21 мин (35 %)</b>	<b>28 мин (46,6 %)</b>
	первичные бластные клетки (кроме m)	21-33 часа ср. 27 час	-	4,7 час (17,4 %)	16-22 час ср. 19 час 70,3 %	18-48 мин ~ 2,0%
	m-бластные клетки	9,3 часа	-	42 мин (7,5 %)	8,0 час (86 %)	48 мин (6,5 %)
	<b>вторичные бластные клетки</b>	<b>22 час</b>	<b>12,4 час 56,4 %</b>	<b>7,5 час 34,1 %</b>	<b>15 час 68,2 %</b>	<b>0,8 час 3,6 %</b>

Особенности МЦ в эмбриогенезе животных с регулятивным и детерминативным типами развития. Продолжительность периода синхронных делений дробления. У животных с регулятивным ТР этот период значительно продолжительнее. У кишечнополостных, иглокожих, амфибий это превращение приходится на стадию бластулы. У *Danio rerio*, в частности, десинхронизация начинается в 10-11 циклах. У животных с детерминативным ТР (полихеты, моллюски и асцидии) трансформация МЦ приходится на более ранние стадии (3-5 цикл); у нематод и пиявок дифференцировка митотических циклов происходит уже на стадии 2-х бластомеров.

Особенности митотических циклов в раннем эмбриогенезе млекопитающих. I-й митотический цикл. Возобновление синтеза ДНК начинается приблизительно через 8 часов после оплодотворения. Столь продолжительный период  $G_1$  объясняют процессом образования и сближения пронуклеусов. I-й раунд репликации у мышей, крыс и кроликов начинается до кариогамии в пронуклеусах (одновременно в обоих) и продолжается около 5 часов. На долю  $G_2$  и митоза приходится также около 5 часов. Т.о., I-й МЦ длится около 18 часов, что является совершенно уникальным. Особенно удивительно, что столь «медленный» синтез ДНК происходит в пронуклеусах, содержание ДНК в которых гаплоидно. Существует предположение, что необычайно затянутая фаза S связана с процессом репрограммирования хромосом пронуклеусов. Уже на 2-клеточной стадии у эмбрионов мыши одновременно транслируются как материнские м-РНК, так и м-РНК зародышей. Естественно, что гены зародыша должны быть к этому моменту уже активированы. **II-й и последующие циклы развития.** **Некоторые особенности дробления:** результат I-го цикла - разновеликие бластомеры, исходная асинхронность, ротационное дробление. **Характерные черты МЦ:** длинное генерационное время, присутствие  $G_1$  и  $G_2$  (время, когда может идти экспрессия),

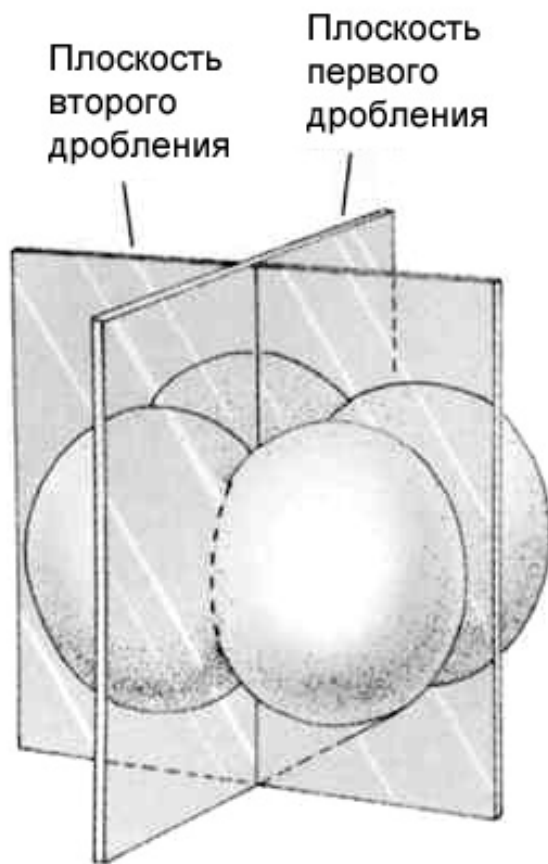
## II-й и последующие циклы развития

**Некоторые особенности дробления:** результат I-го цикла - *разновеликие бластомеры, исходная асинхронность, ротационное дробление*. **Характерные черты МЦ:** длинное генерационное время, присутствие  $\underline{G}_1$  и  $\underline{G}_2$  (время, когда может идти экспрессия), относительно продолжительный S-период, сокращающийся митоз, нет МВТ. «**противоположное** (в сторону сокращения) **направление**» изменений МЦ, «**интенсификация пролиферации**» в период гаструляции (7-10 сутки),

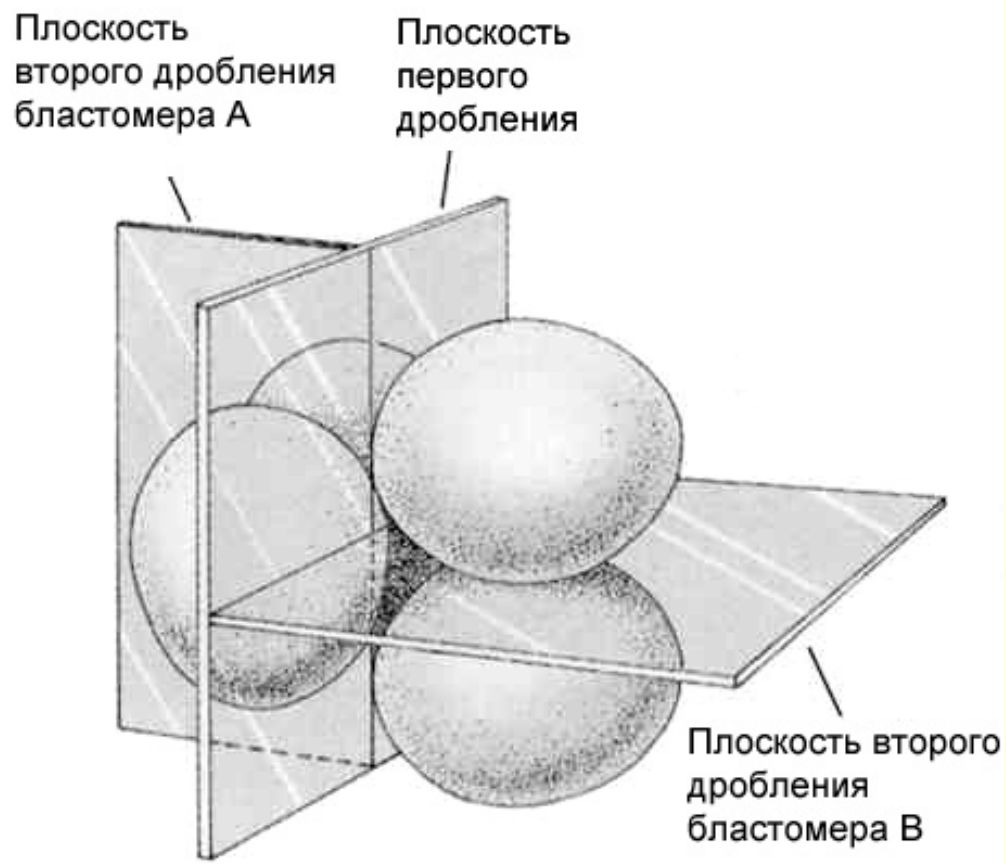
# Продолжительность и структура митотических циклов в период дробления у мыши

ЦИКЛЫ	$T_c$	$G_1$	S	$G_2$	M	$G_2 + M$
I	18,0	8,0	5,0			5,0
II	19,3	1,3 6,7	7,2 37,3	8,9 46,1	2,4 12,4	
III	10,4	1,3 12,5	6,5 62,5	1,2 11,5	1,2 11,5	
IV	10,7	2,1 19,6	6,3 59,0	3,0 28,0	?	2,5
V	10,8	2,1 19,4	5,1 47,0	1,8 16,7	0,6 5,5	
VI	6,0					

# Ротационное голобластическое дробление у Eutheria

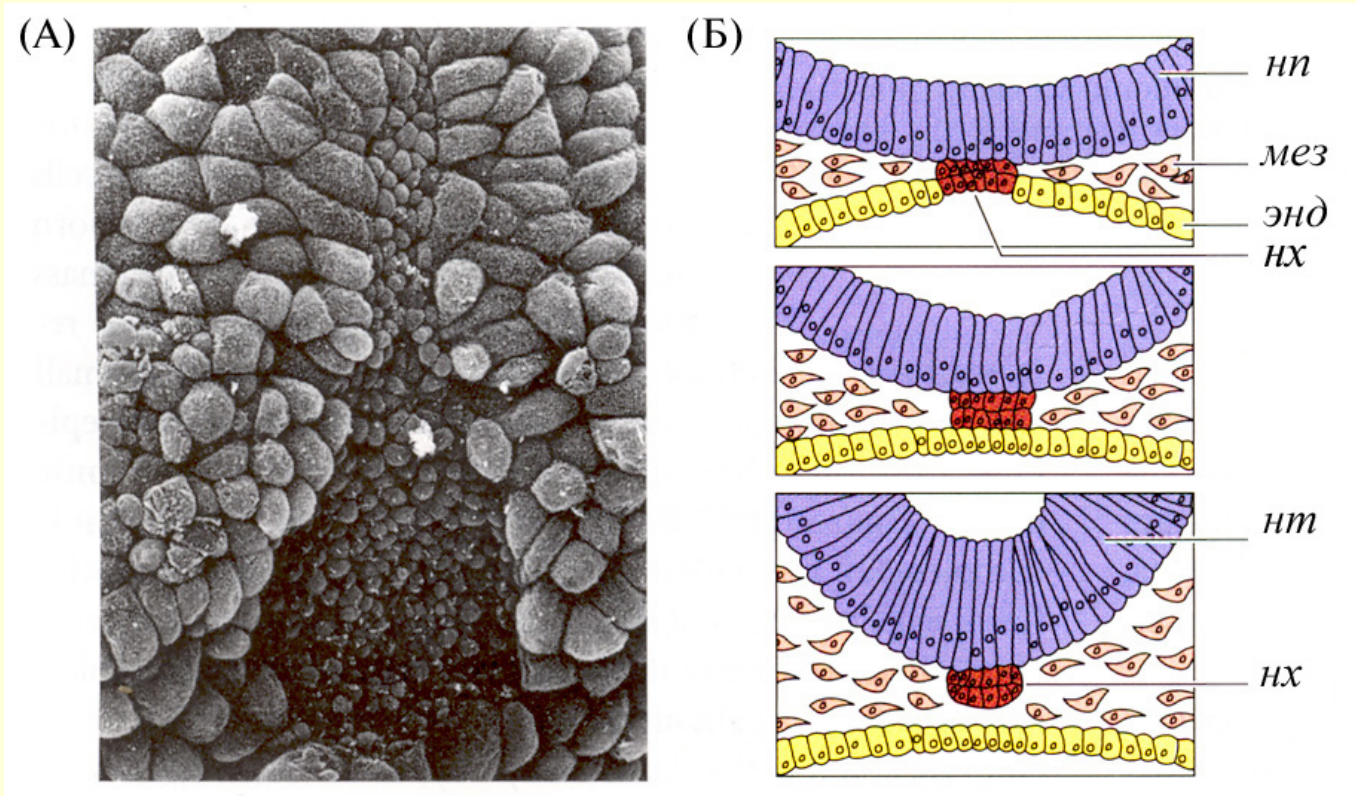


Ланцетник



Кролик

# Почему столь мелкими оказываются клетки хорды у зародыша мыши ?



В противоположность другим позвоночным у млекопитающих в период гаструляции начинается резкое усиление пролиферативной активности, в особенности в мезодерме и хордомезодерме. Значительно укорачиваются митотические циклы до 5 часов в эктодерме и 2-2,5 часов в хорде.

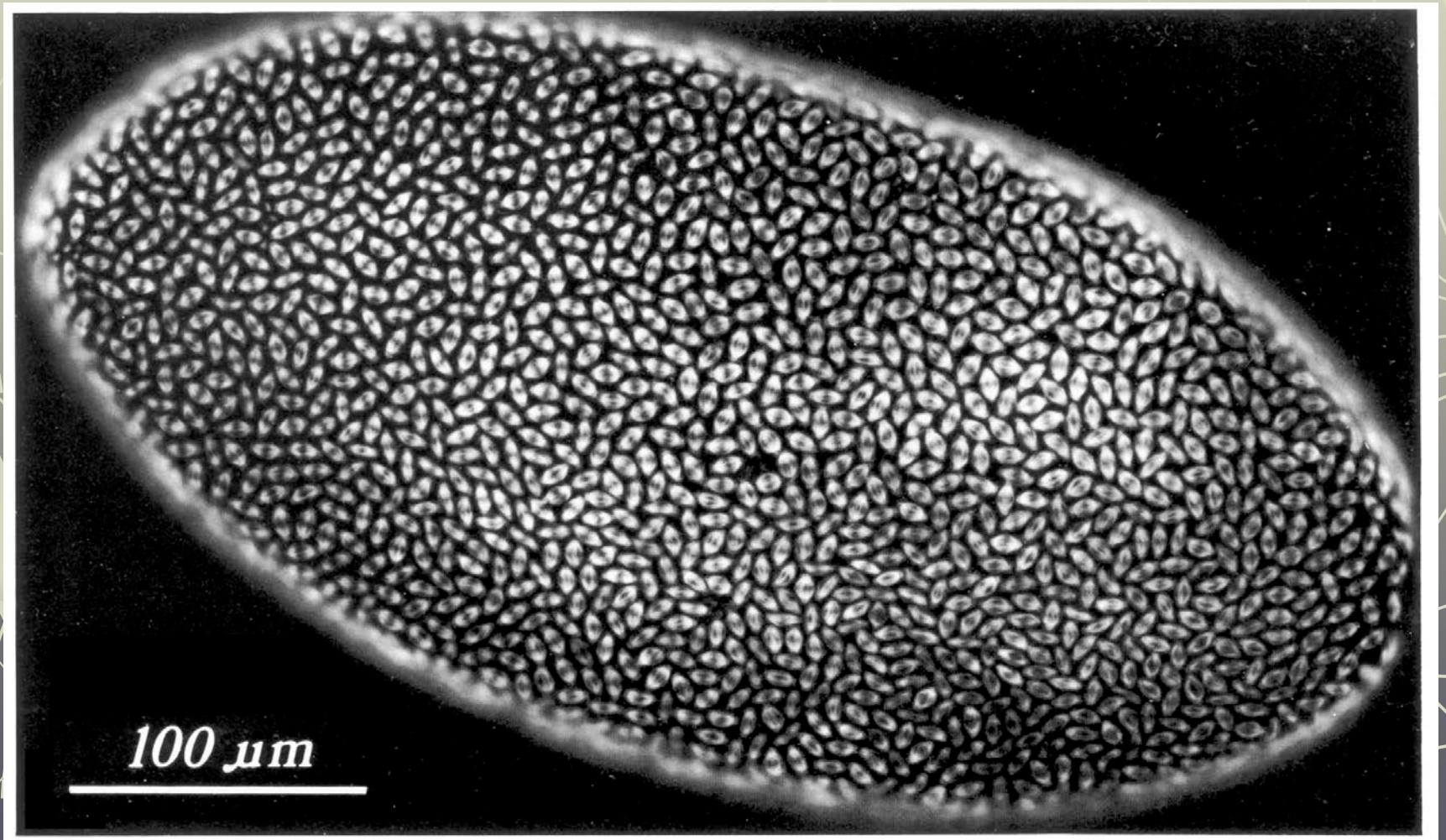


**Особенности организации процесса пролиферации в системе развивающегося зародыша в раннем эмбриогенезе (регионализация, градиенты, метасинхронность и парсинхронность).**

**От регионализации к метасинхронности.** Регионализация длительности МЦ у разных групп животных обнаруживается в разное время и очень индивидуально. Это доказывает участие в процессах регуляции генома зиготы. Например, у *Drosophila* во время 10 МЦ (7,6 мин) ядра перемещаются на периферию. Затем следуют три МЦ с прогрессивно снижающейся скоростью (9,7  $\Rightarrow$  12,6  $\Rightarrow$  16,0 мин). По характеру протекания они близки к синхронным, но митозы в этих циклах начинаются в ядрах, располагающихся на полюсах яйца. А затем митозы распространяются в виде двух встречных волн по направлению к середине яйца. Такие МЦ получили название **метасинхронных (метасинхронных)** циклов. Метасинхронные циклы характерны не только для зародышей насекомых. Волнообразный процесс локализации фаз циклов описаны и у *D. rerio* и у зародышей *Xenopus*, у которых волны митозов распространяются от анимального к вегетативному полюсу.

**Митотические домены в развитии *Drosophila*.** Итак, у зародышей дрозофилы все ядра в синцитиальном яйце делятся на протяжении 13 циклов с глобальной синхронностью. Но с момента целлюляризации в 14-м цикле эта всеобщая синхронность прекращается. Начиная с интерфазы 14-го цикла, появляются, по меньшей мере, 25 «митотических доменов» (Victoria Foe, 1989). **Определение:** *Митотические домены представляют собой кластеры клеток, объединённых локальной синхронностью митотических циклов (митозов).* С момента их появления поверхность бластодермы зародыша становится тонко организованной в отношении пролиферации системой.

# Период синхронных циклов в эмбриогенезе *Drosophila*



Расположение и специфика этих митотических доменов оказывается строго *стадияспецифичной*, возбуждаясь в определённой временной последовательности в каждом зародыше.

**Разновидности:** Некоторые из доменов являются *обширными зонами*, широко простирающимися в стороны от вентральной или дорсальной срединной линии зародыша. Многие состоят из *двух отдельных клеточных кластеров*, которые занимают зеркальное положение на поверхности билатерально-симметричного зародыша. Другие *включают серии метамерно повторяющихся билатерально-симметричных членов*. Таким образом, домены могут состоять из одного, двух или более (в случае их метамерности) кластеров соседствующих клеток.

**Процесс:** *метахронность в пределах домена*. В пределах каждого кластера митозы стартуют в одной клетке или в небольшом числе внутренних клеток и затем волнообразно распространяются во всех направлениях, достигая границы домена.

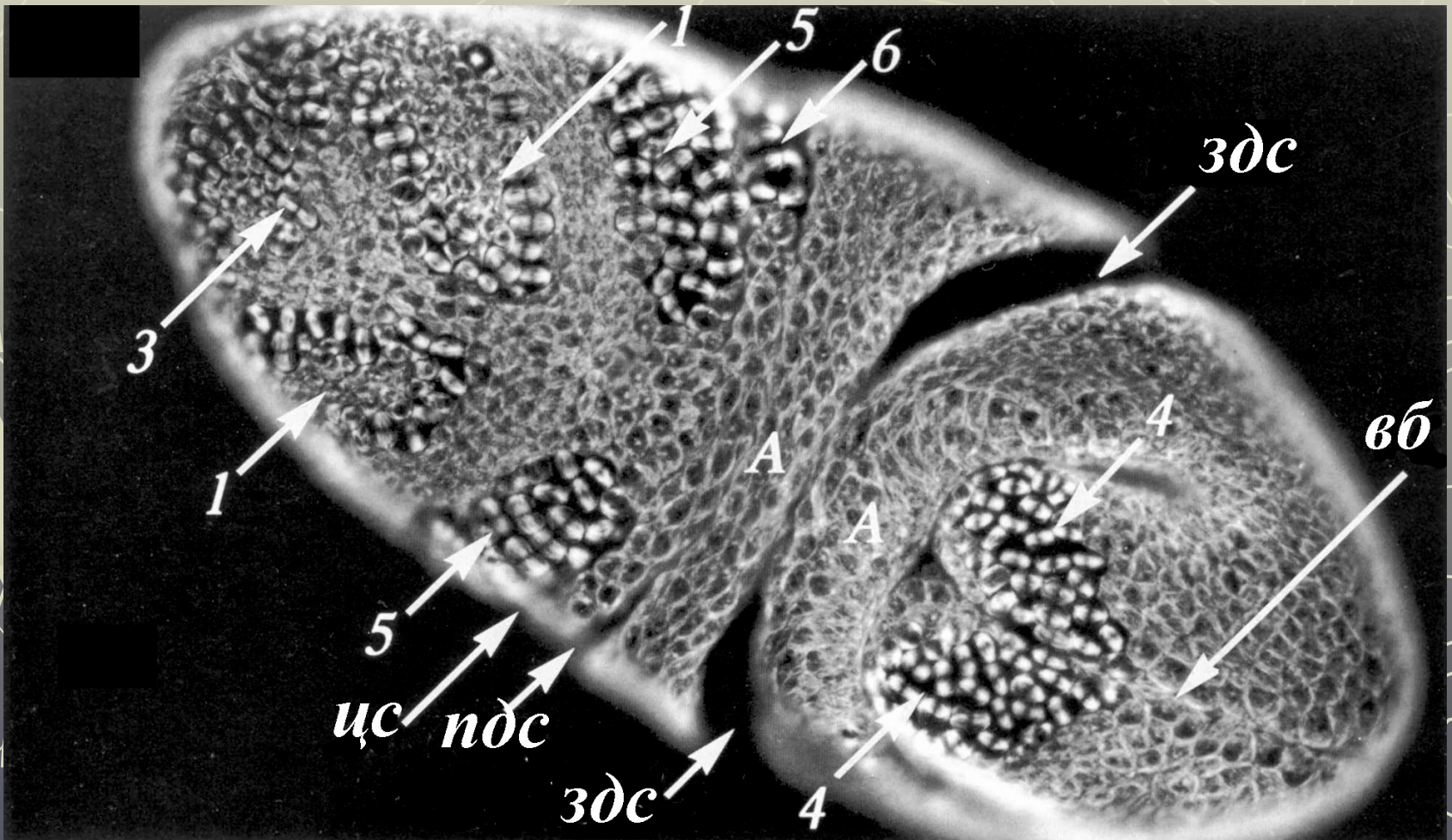
**Конструкция:**

Каждый домен занимает специфическое положение вдоль переднезадней и дорсовентральной оси. Зачатки определённых личиночных структур оказываются состоящими исключительно из клеток одного митотического домена. Более того, клетки, по крайней мере, некоторых митотических доменов, характеризуются *определёнными морфогенетическими свойствами*, отличающими их от клеток соседних доменов.

Каковы морфогенетические особенности доменов. Домены могут иметь разную форму клеток, отличаться ориентацией митотических веретён и участием или неучастием всех клеток домена в инвагинации. Специализированное поведение разных митотических доменов превращает однослойный пласт клеток бластодермы в многослойную гастролу.



# Метахронные митотические циклы (кластеры митозов)



Специализированное поведение разных митотических доменов превращает однослойный пласт клеток бластодермы в многослойную гастролу. Виктория Фое полагает, что эта тонкая организация только что целлюляризованного эмбриона в виде системы митотических доменов «является самой ранней демонстрацией коммитирования клеток в направлении их окончательной судьбы».

Нет сомнения, что в основе этого явления «доменной организации» пролиферативного процесса лежит изменение композиции клеточных популяций. Возможно, такая кластеризация клеток по митотическому циклу является переходом к парасинхронности пролиферации. \*\*\*

# Парасинхронность митотических циклов в эмбриогенезе

Особенно отчётливо *парасинхронность* пролиферации проявляется в периоды морфогенетических преобразований в раннем развитии животных, например, при гастрюляции, нейруляции и в сомитогенезе



Учитывая сказанное о клеточном цикле как непрерывной последовательности закономерно расположенных во времени событий, митотический цикл можно разбить на произвольное число  $m$  равных промежутков или «категорий зрелости» (возрастных категорий, по: Foerster, 1959) –  $R_1, R_2, \dots, R_m$ , положение которых в цикле определяется временем  $\theta$  (тета). При этом  $R_1$  – промежуток, лежащий в пределах от 0 до  $T/m$ ;  $R_2$  – промежуток в пределах от  $T/m$  до  $2T/m$ ;  $R_i$  – промежуток  $(i - 1) T/m \leq \theta \leq iT/m$  (слайд ★).

Границы категорий зрелости в принципе можно связать с границами конкретных процессов в клетке, так что для категории зрелости  $R_1$  характерно осуществление процесса  $r_1$ , для категории  $R_2$  – осуществление процессов  $r_2$ , которые являются непосредственным продолжением процессов  $r_1$ . В сущности, под категориями зрелости мы можем рассматривать фазы (периоды) в классической модели клеточного цикла. И распределение клеток по фазам будет тем же самым возрастным распределением (*age distribution*).

**Стабильный цикл единичной клетки.** В течение некоторого времени  $0 \leq \theta \leq T$  клетка совершает «движение» по митотическому циклу, переходя из одного состояния в другое, с постоянной скоростью. Её положение в той или иной точке цикла определяется временем  $\theta$ , прошедшим после деления, в результате которого она возникла. При  $\theta = T$  клетка делится и кончает свое существование. \*\*\*

## **Композиция клеточной популяции** и оценка степени единообразия (синхронности). **О композиции.**

Переходя к популяции, собственно, заметим, что применив ту же систему координат, можно для каждого момента времени воспроизвести композицию клеточной популяции, т.е. *положение в цикле всех клеток по возрастным категориям или по категориям зрелости.*

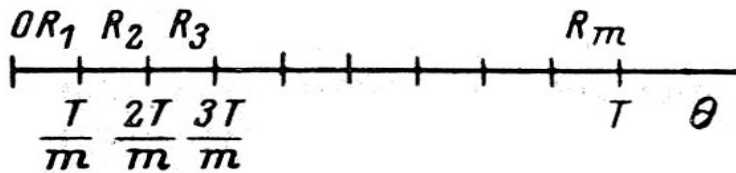
**О синхронности и асинхронности.** При этом очень важно знать, все ли из имеющихся категорий в цикле заняты клетками, или все клетки сосредоточены в одной категории зрелости. В последнем случае популяцию называют **синхронной** (с точностью до одной категории зрелости) (слайд★). Во всех остальных случаях популяция будет **асинхронной**, хотя степень её асинхронности, естественно, будет различной.

**О степени синхронности.** Очень часто о степени синхронности судят по числу клеток одновременно наблюдаемых в фазе митоза. Легкость морфологической идентификации и относительная кратковременность этой фазы цикла. В случае, когда о степени синхронности судят по максимуму (или по минимуму) клеток в фазе, оценка степени синхронности может производиться только периодически, по мере поступления или выхода клеток из фазы. Одна из простейших оценок синхронности популяции в целом состоит в вычислении отношения числа занятых категорий зрелости к общему их числу [  $P = m_c/m$ ; где  $P$  – коэффициент асинхронности,  $m_c$  – число занятых категорий зрелости]. При использовании такого критерия в случае синхронной популяции, где  $m_c = 1$ ,  $P = 1/m$ , а в максимально асинхронной популяции, где  $m_c = m$ ,  $P = 1$ .

**Относительная мера асинхронности  $R$ .** Но лучше использовать *относительную меру асинхронности*:  $R = H/H_{max} = H/\log m$  \*\*\*

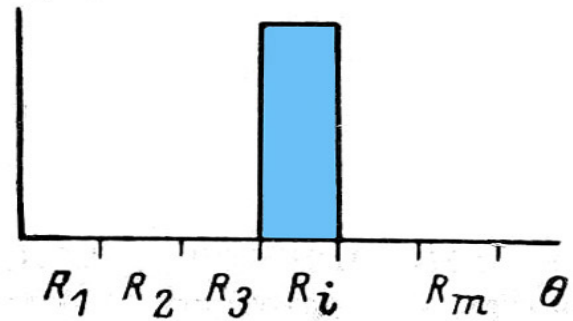
# Композиция клеточных популяций (age distribution)

**А**

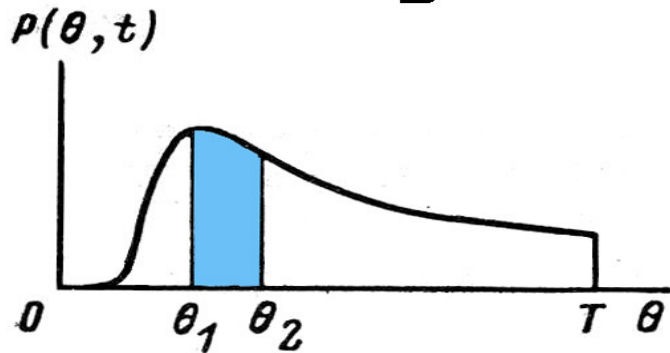


$\rho(\theta, t)$

**Б**

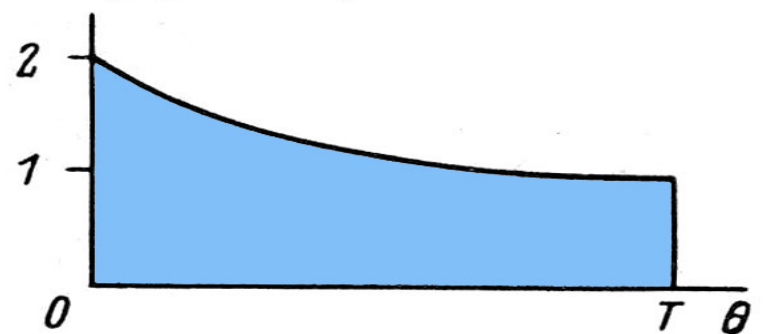


**В**



$\rho(\theta, t)$

**Г**



### ***Три основных типа композиции клеточных популяций:***

- 1) Популяции с крайней неравномерностью распределения (синхронные).  $R = 0$ . Синхронная популяция характеризуется в высшей степени нестабильной композицией, постоянно меняющейся во времени.
- 2) Популяции с равномерным распределением (полностью асинхронные).
- 3) Популяции с неравномерным распределением (парасинхронные). Классификация композиций. Смотри слайд-таблица 31.

О парасинхронной композиции популяций. Волновой процесс распределения. Модель – прорыв плотины высокогорного озера. Причины возникновения парасинхронности: незавершившийся процесс десинхронизации, стимуляция пролиферации (выход клеток из  $G_0$ ) при регенерации, стимуляции, суточной периодичности пролиферации.

### ***Парасинхронность пролиферации в раннем эмбриогенезе куриного зародыша.***

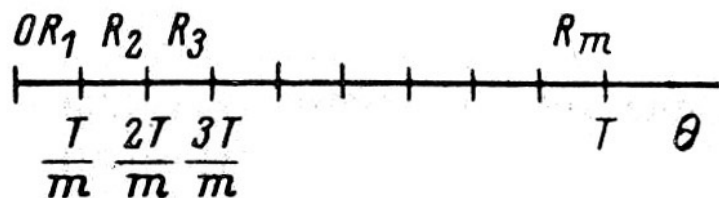
Кинетический парадокс наблюдаемых градиентов митотического индекса. Масштабность градиентов и зоны роста. Динамические критерии, противофазность индексов перехода. Важный фактор – неизменность временных параметров митотических циклов при градиентах.

# Классификация клеточных популяций по их КОМПОЗИЦИИ (*age distribution*)

Характер прохождения фаз мит. цикла	Характер распределения клеток по фазам цикла	Асинхронность популяции, R	Тип распределения клеток по категориям зрелости
Синхронный	Нестабильное распределение	Нулевая, $R = 0$	Максимально неравномерное, все $\beta = 1$
Асинхронный	Стабильное	Полная, $R = 1$	Равномерное (равновесное состояние, steady state)
Асинхронный	Стабильное	Частичная, $0 < R < 1$	Неравномерное (экспоненциальное)
Асинхронный	Нестабильное распределение	Частичная, $0 < R < 1$	Неравномерное (парасинхронное)

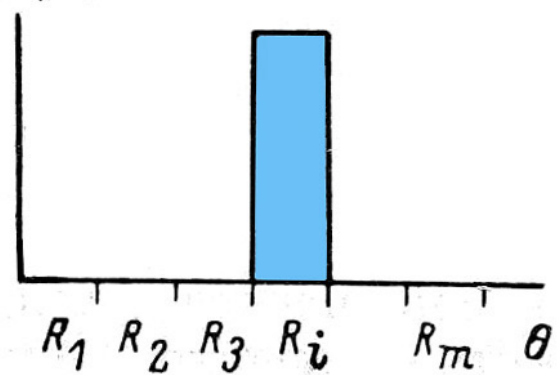
# Композиция клеточных популяций (*age distribution*)

**А**

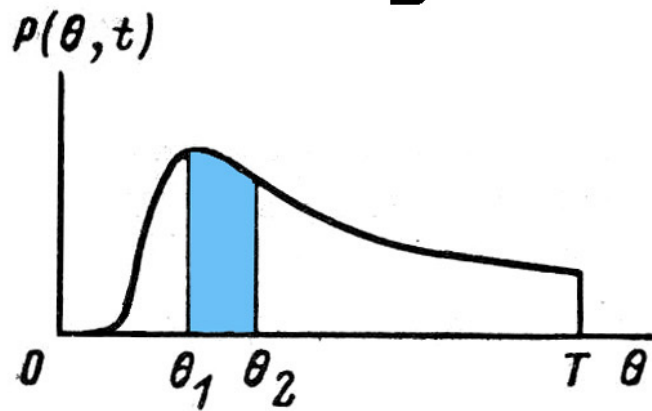


$\rho(\theta, t)$

**Б**

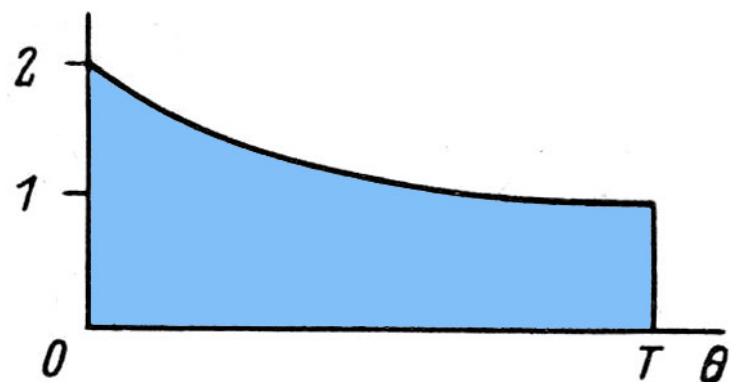


**В**



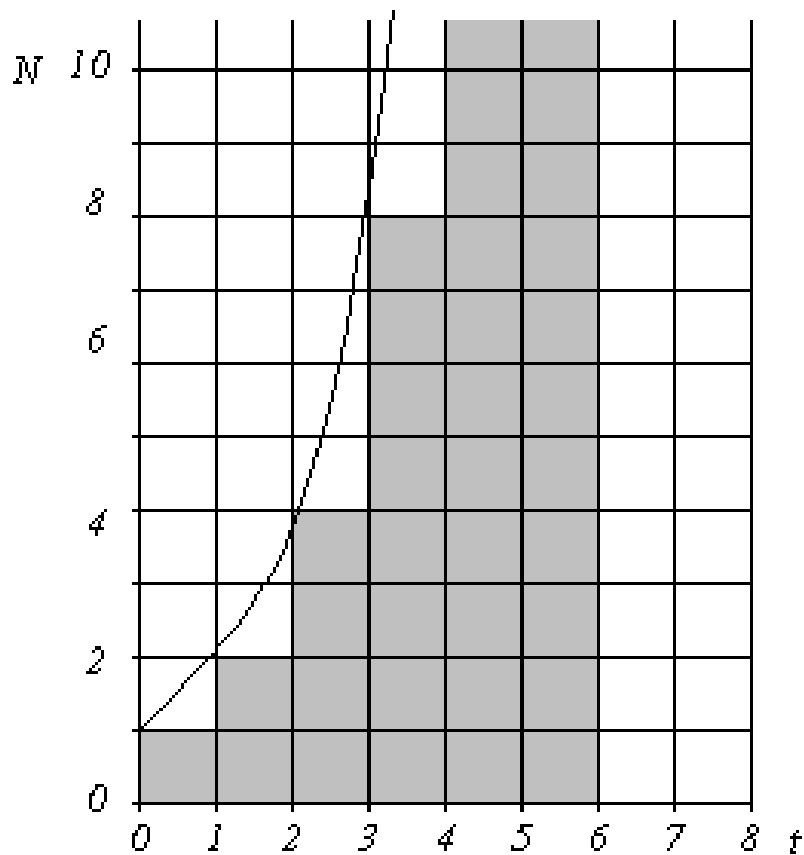
$\rho(\theta, t)$

**Г**



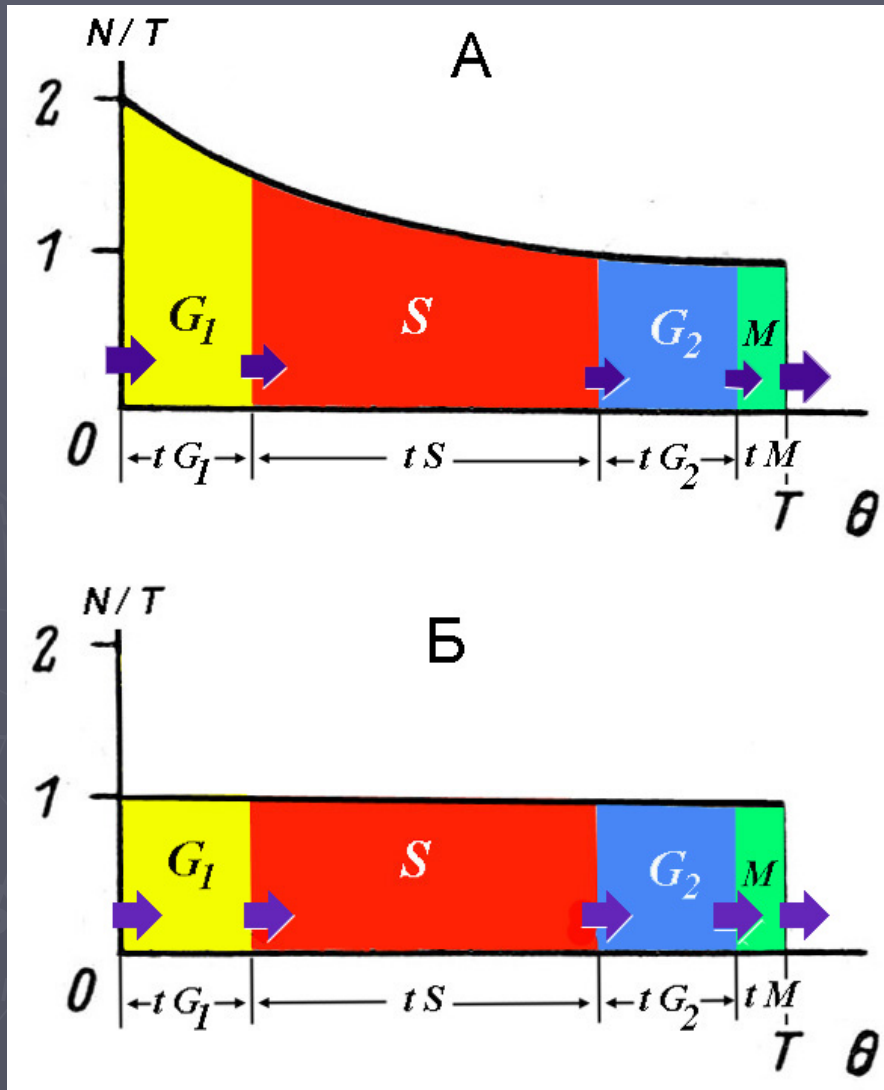


# Рост популяции бластомеров при синхронном дроблении



Экспоненциальный характер нарастания числа клеток в процессе синхронных делений раннего дробления.

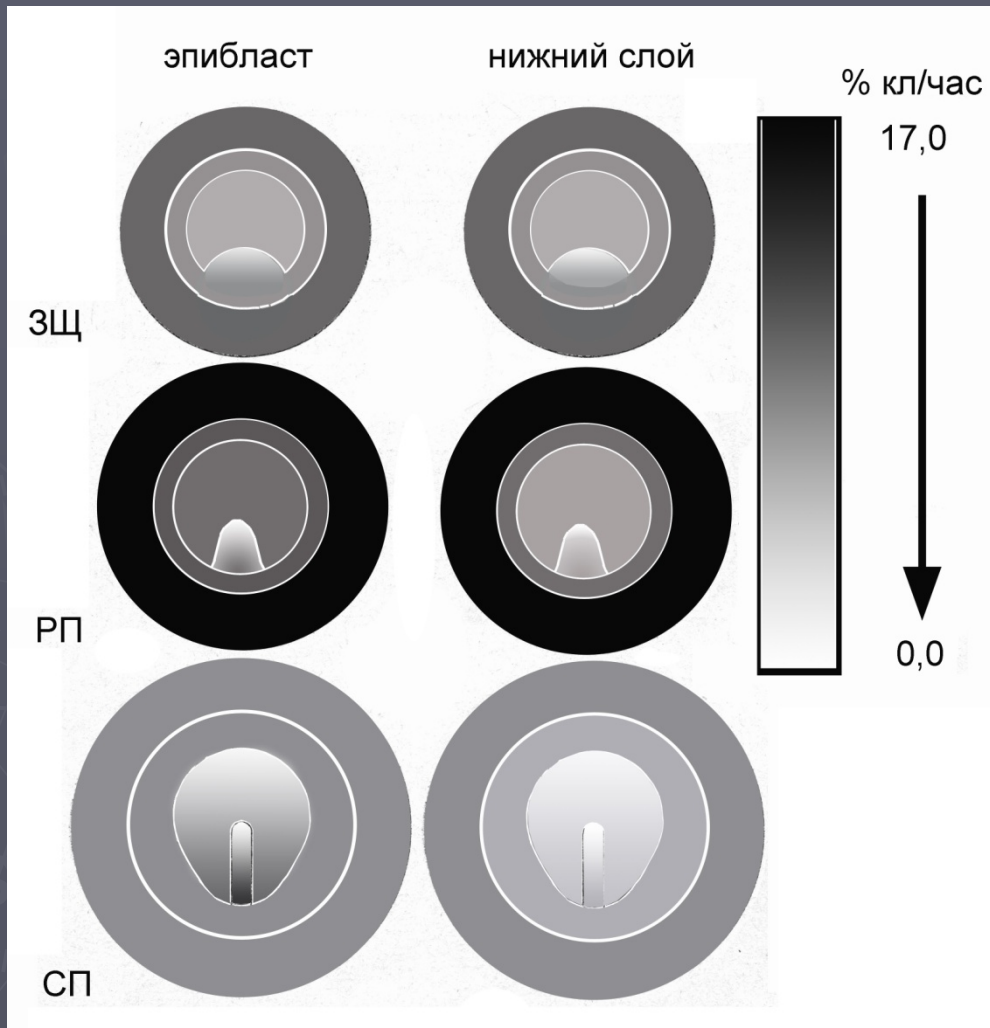
# Асинхронные стабильные клеточные популяции



► Рис. А. Экспоненциальная (растущая) популяция характеризуется стабильной, но неравномерной композицией

► Рис. Б. Обновляющаяся популяция (не растущая) популяция характеризуется стабильной и равномерной композицией. Такая популяция находится в равновесном (*steady state*) состоянии

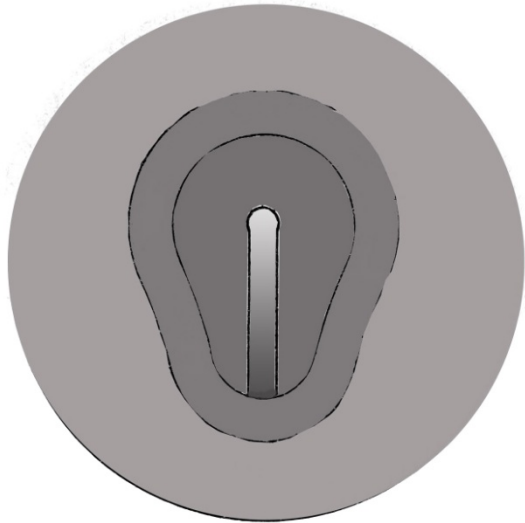
# Градиенты пролиферации в раннем эмбриогенезе chick embryo



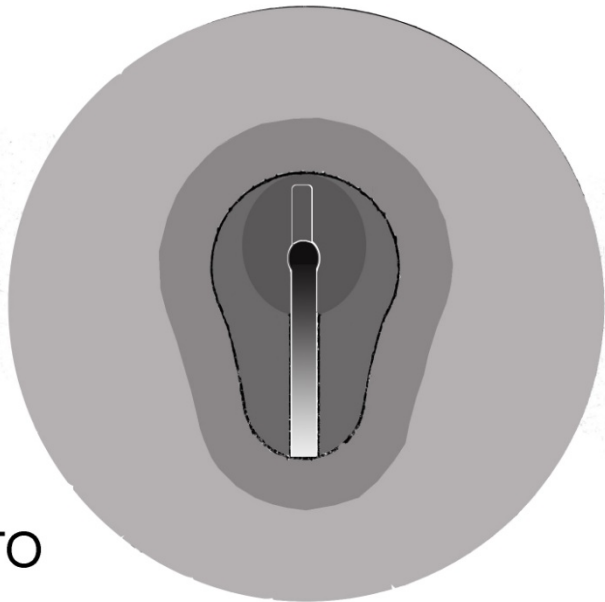
- Распределение **пролиферативной активности** ( $P_m$ ) в бластодерме куриного эмбриона на стадиях 1 (4 часа инк.), 2 (8 часов) и 3 (12 часов инкубации).
- **Колхицин** инъецировался под бластодерму; фиксации проводили через 1 и 3 часа после введения митостатика

по Ефремов (1968)

эпибласт (эктодерма)



ДП



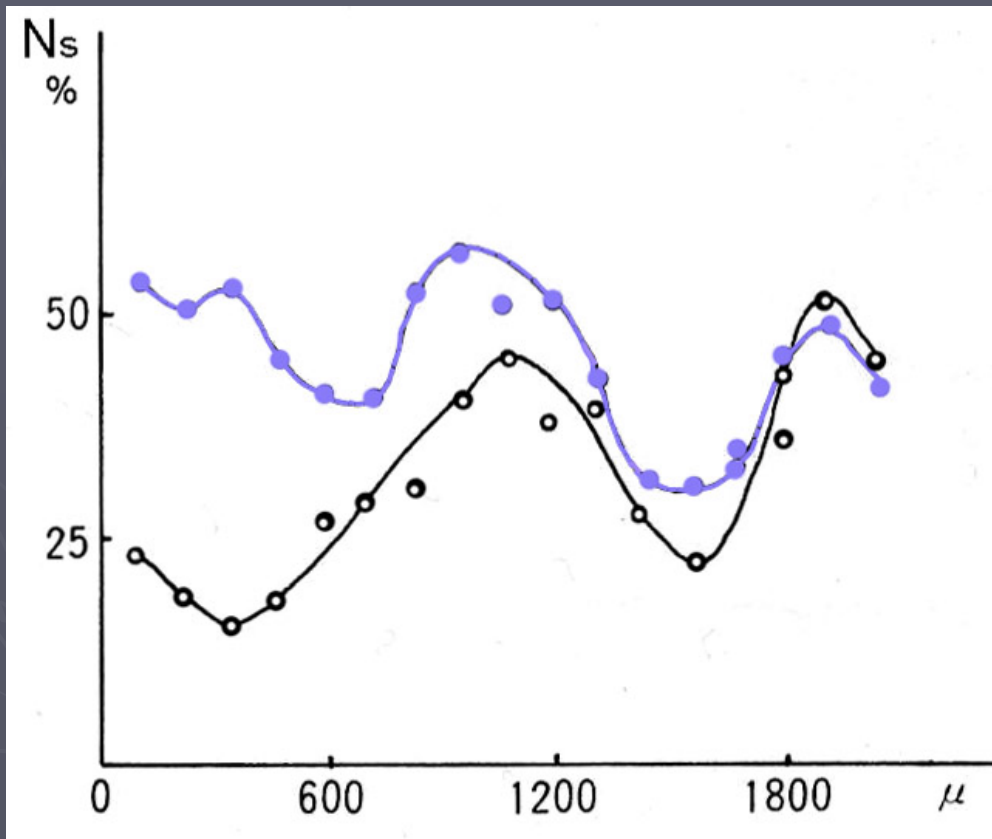
ГО

Распределение **пролиферативной активности** ( $P_m$ ) в бластодерме куриного эмбриона на стадиях 4 (18 ч) и 5 (21 ч инкубации).

К стадии дефинитивной полоски изменилось направление радиального градиента; и за 3 часа к стадии головного отростка заднепередний градиент **к-МИТОЗОВ** в полоске поменялся на противоположный. При этом продолжительность клеточного цикла ( $T_c$ ) осталась прежней.

по Ефремов (1968)

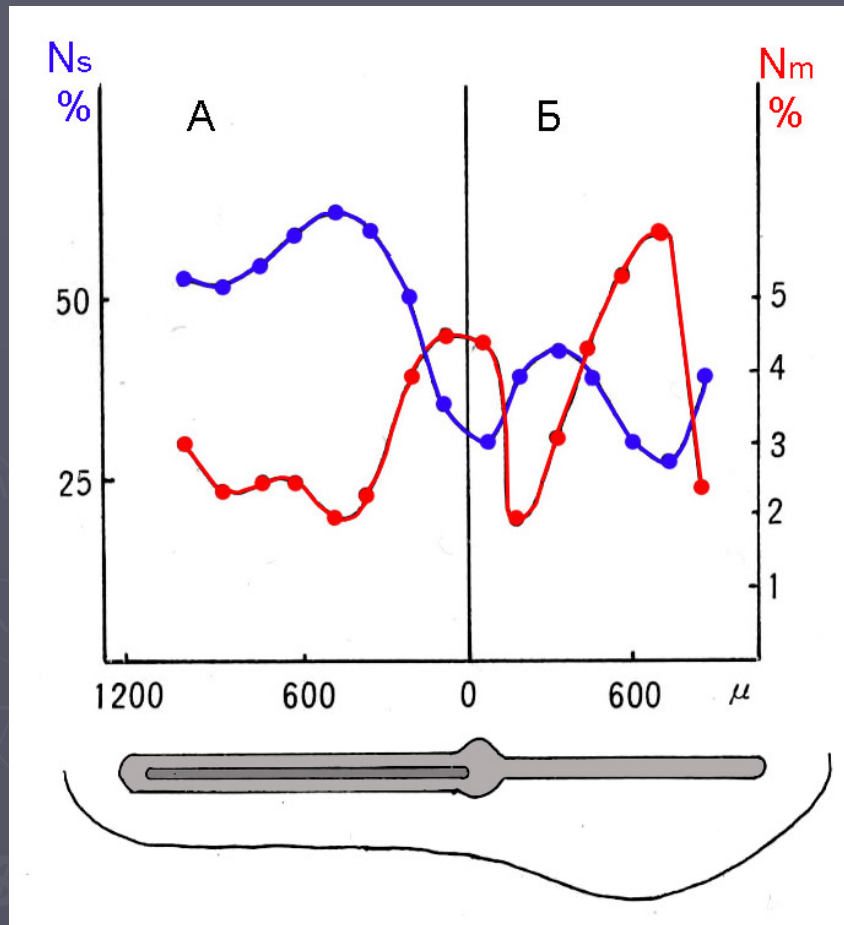
# Композиция клеточных популяций и эмбриональная индукция



Ozato, 1969,b

- ▶ Распределение индекса фазы S ( $N_s$ ) вдоль вентральной области нейральной трубки (голубая кривая) и нотохорды (черная кривая) у зародыша курицы на стадии 9.
- ▶ Кривые почти параллельны, начиная от гензеновского узелка в переднем направлении (Ozato, 1969,b)
- ▶ Подобная **«синхронность»** двух взаимодействующих клеточных систем, возможно, является необходимой предпосылкой **эффективности процесса индукции.**

# Парасинхронные циклы в эпибласте (эктодерме) эмбриона курицы

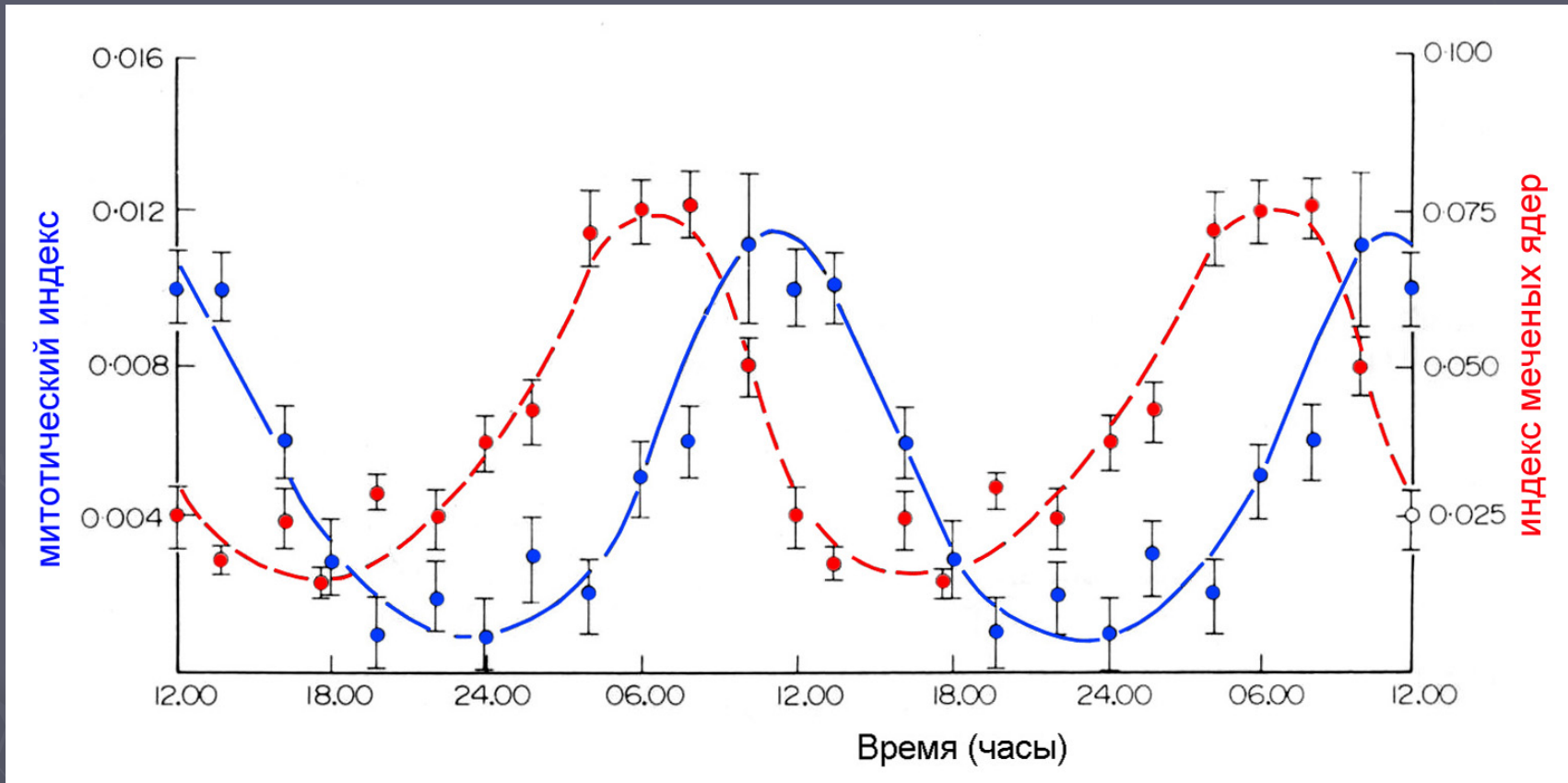


Реципрокный (перекрёстный) характер распределения значений митотического индекса ( $N_m$ ) и индекса фазы синтеза ДНК ( $N_s$ ) вдоль переднезадней оси зародыша на стадии головного отростка (ст. 5).

Кривые значений указанных индексов располагаются в противофазе, что свидетельствует о **парасинхронной композиции** клеток данной области эпибласта (эктодермы)



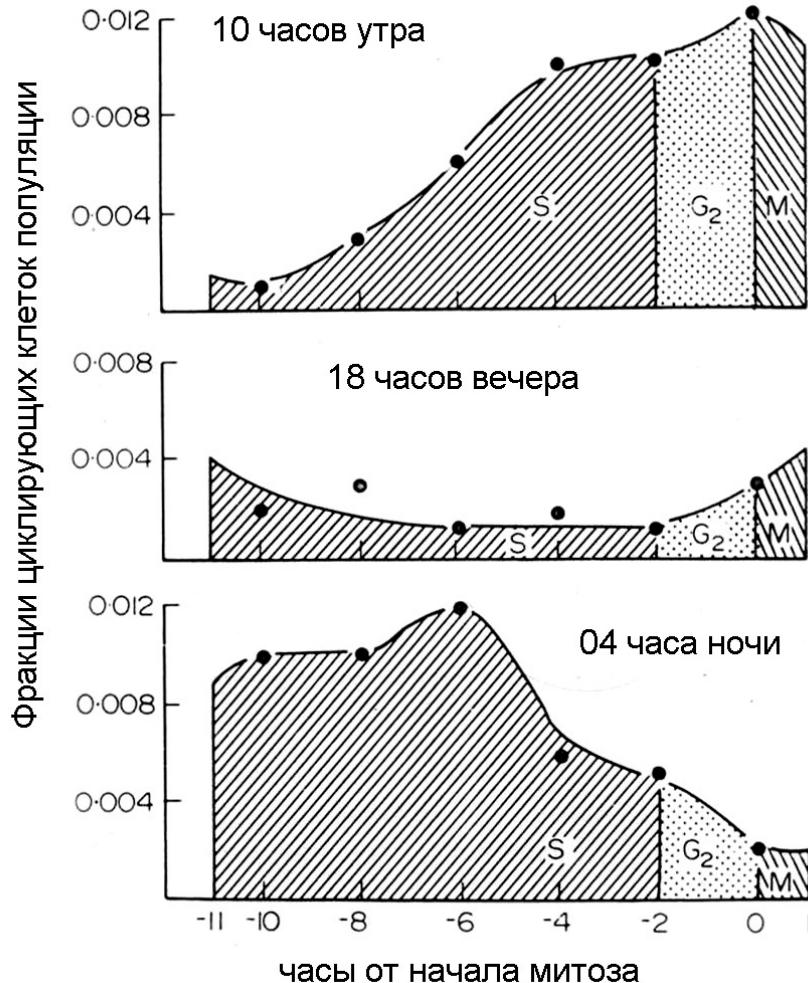
# Циркадные ритмы митозов и парасинхронность популяций



- ▶ Эпителий защёчных мешков сирийского хомячка. Флуктуации значений митотического индекса (синий) и индекса первично меченых клеток (красный) в течение двух суток .



# Композиция парасинхронных популяций



- При циркадной периодичности клеточного размножения базальные клетки эпителия защёчных мешков хомячка пульсируют из G<sub>0</sub> и обратно с 12-часовым ритмом. Это отражается в волновой динамике композиции популяции базальных клеток эпителия.

# Морфогенетическая роль парасинхронности

Биологическое значение явления парасинхронности клеточного размножения в эмбриональном развитии следует искать в самом факте возможности синхронного преобразования клеток в митотическом цикле.

Известно, что способность к дифференциации обнаруживают только такие клеточные совокупности, где общее количество клеток достигает некоторого критического для данного типа дифференциации уровня («эффект массы»). Достижение такого состояния возможно при условии, когда клеточный материал становится относительно однотипным и приобретает свойство одинаково реагировать на тот или иной стимул. Такое условие, по-видимому, может возникать в случае синхронизации по митотическому циклу

Синхронизация в любом выражении имеет большое значение в смысле выравнивания клеточного материала популяции, своеобразной настройки рецепторного аппарата клеток «на одну волну», обеспечивающей последующую единообразную реакцию клеток, например, на индуцирующие факторы

# Пролиферативный статус и классификация тканей



# Пролиферативный статус и классификация тканей



Giulio Bizzozero  
(1846-1901)

Попытки классифицировать клеточные совокупности по их способности к пролиферации и росту предпринимались, начиная с конца 19-го столетия. К числу пионерских работ в этом плане следует отнести, прежде всего, труды итальянского профессора медицины Джулио Биццоцери (Bizzozero, 1894), много сделавшего для понимания закономерностей роста некоторых тканей. Однако во всех работах подобного рода авторы при определении пролиферативной способности тканей руководствовались критерием частоты встречаемости митозов (митотическим индексом), применимость которого, как уже отмечалось, не всегда бывает оправданной, и не всегда удобна технически.

# Пролиферативный статус и классификация тканей (по Леблону)



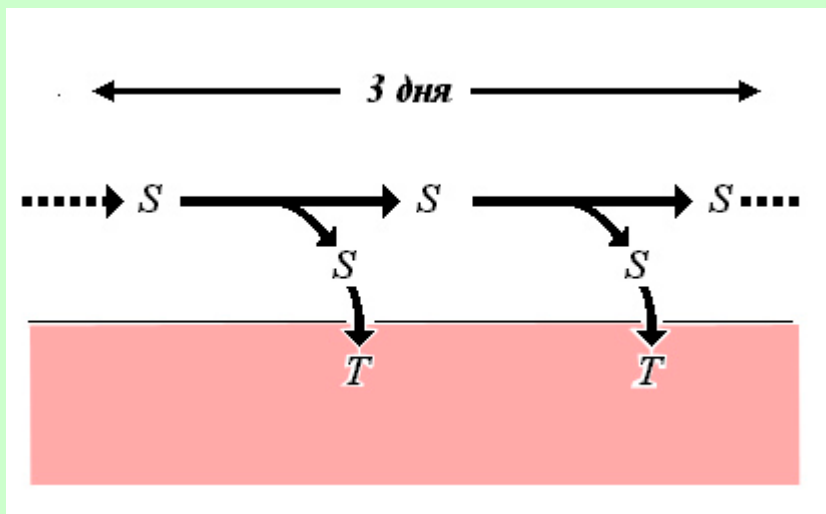
Charles Philippe Leblond  
(1910-2007)

- В 1959 году выдающийся современный гистолог и цитолог Леблон предпринял попытку создать простую классификацию клеточных систем, руководствуясь такими параметрами, как возраст животного, при котором клетки прекращают включать  $^3\text{H}$ -тимидин и скорость, с которой клетки способны обновляться в результате митотических делений (Leblond, Messier and Kopriva, 1959).
- Экспериментальная схема и интерпретация результатов показаны в таблице (следующий слайд).
- В последующем предложенная классификация была расширена за счет включения в неё четвертого, т.н. *промежуточного* типа тканей. В него вошла скелетная мускулатура и нейроглиальные элементы; рост этих тканей совершается за счет клеток-сателлитов (мышцы) и клеток субэпендимы (нейроглия).

Возраст животных (крысы) в момент инъекции $^3\text{H}$ -тимидина 	3 дня	6 месяцев	3 дня
Возраст животных в момент забоя 	3 дня	6 месяцев	6 месяцев
<b>Исследованные ткани</b> 	Результаты (наличие меченых клеток)		
<b>Стабильные (нерастущие):</b> (А) Поперечно-полосатые мышцы (?!), гладкая мускулатура, сердечная мышца, среднего размера нейроны	+	—	+
	—	—	—
<b>Растущие (<i>expanding</i>):</b> Клетки некоторых отделов почки, паренхима печени, клетки ацинусов и островков поджелудочной железы, кортикальные клетки надпочечников	+	+	+
<b>Обновляющиеся (<i>renewal</i>):</b> Эпителии: языка, кожи, кишечника, сперматогенный эпителий семенника, кортикальные клетки тимуса, соединительная ткань дермы, костный мозг и лимфоциты в лимфоцитарных органах	+	+	—

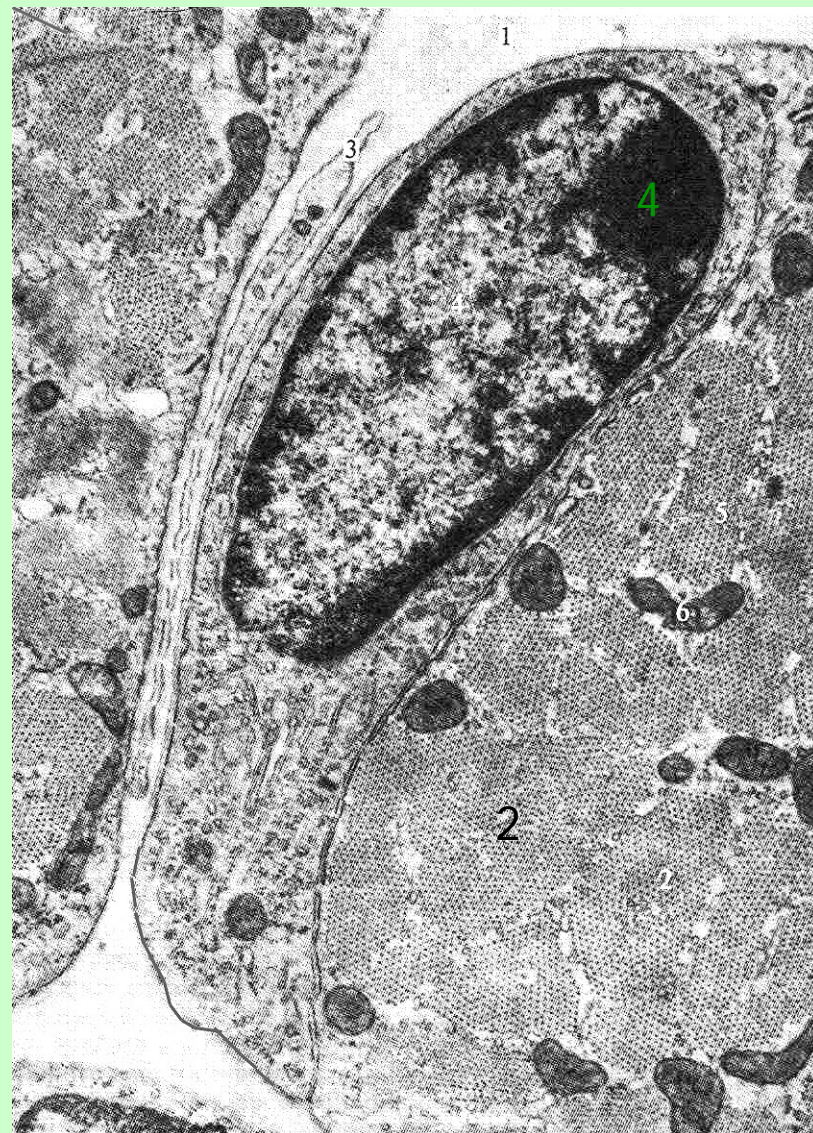


# РОСТ ПОПЕРЕЧНОПОЛОСАТЫХ МЫШЕЧНЫХ ВОЛОКОН КРЫСЫ



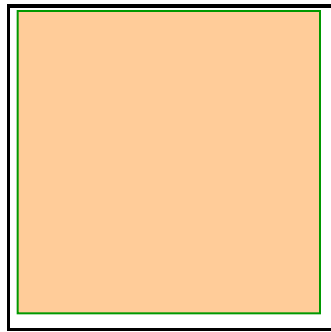
У крыс число волокон в мышцах в постнатальном периоде может удваиваться. Число ядер в каждом волокне также возрастает за счет добавления ядер из слившихся с волокном *клеток-сателлитов*.

Поперечный срез через миофибриллы (2); 1 – базальная пластинка; 3 – фрагмент клетки фибробласта эндомизия; 4 – ядро клетки-сателлита; 6 – митохондрии.

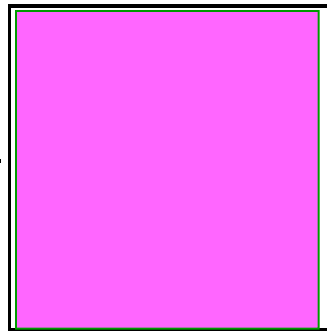


# Различные известные типы компартментов клеточных популяций

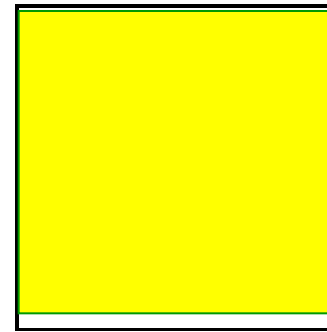
простой транзит  
(ретикuloциты)



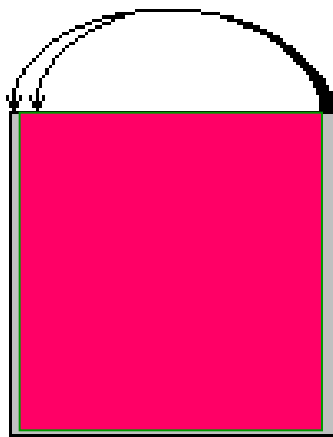
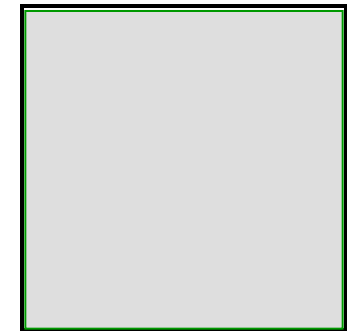
не имеет реально-  
го прототипа



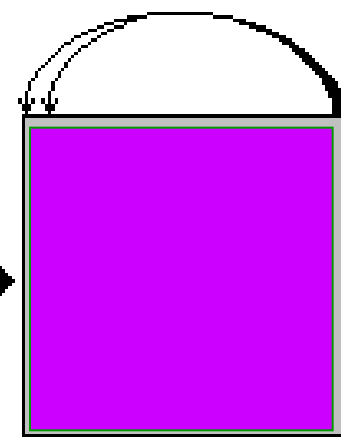
редуцирующая  
(яичник взросл.)



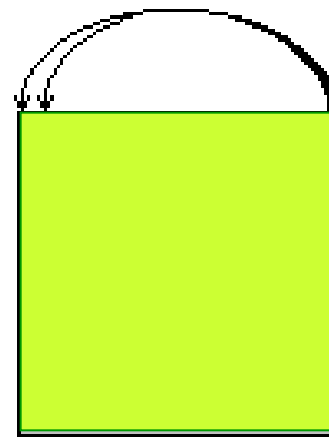
статичный  
(закрытый)



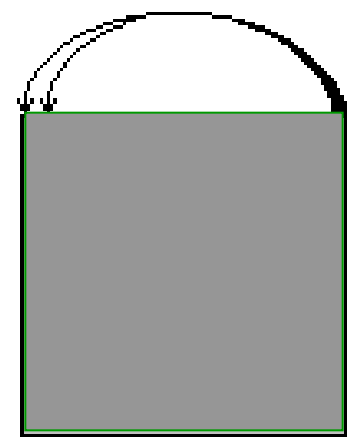
транзит с делени-  
ями



не имеет рального  
прототипа



стволовой тип  
(родоначальные к-ки)



делящийся  
(закрытый)



## Временные критерии

(время удвоения числа клеток в популяции и генерационное время)

Таблица 3.

параметры	Популяция А	Популяция В
$T_2$	5 час	20 час
$C$	1 или (100%)	1/8 или (12,5 %)
$T_c$	5 час	2,5 часа
$P_c$	20%/час	40%/час
<b><math>PS</math></b>	<b>20 % / час</b>	<b>5 % / час</b>

при  $C \neq 1$ ;  $T_2 \neq T_c$ , но

$$T_2 = \frac{T_c}{C} \text{ , а } T_c = T_2 \times C$$

и  $P_c = \frac{1}{T_c}$  , а  $P_c = \frac{[I]}{C}$

## Время удвоения и пролиферативный статус системы

$$PS = \frac{1}{T_2} = \frac{C}{T_c} = C \times P_c = [I]$$

где  $PS$  – пролиферативный статус;  $T_2$  – время удвоения;  $C$  – пролиферативный пул;  $P_c$  – пролиферативная активность;  $T_c$  – генерационное время;  $[I]$  – относительный прирост

# Изменение пролиферативного статуса в онтогенезе позвоночных



по Ефремов и Эль-Зайят (1977)

# КОНЕЦ ПРЕЗЕНТАЦИИ

автор презентации В.И. Ефремов