

УДК 612.621:577.2

DOI: 10.20538/1682-0363-2018-2-133-142

Для цитирования: Зенкина В.Г., Солодкова О.А. Молекулярно-генетические механизмы организации и развития яичника. *Бюллетень сибирской медицины*. 2018; 17 (2): 133–142.

Молекулярно-генетические механизмы организации и развития яичника

Зенкина В.Г., Солодкова О.А.

*Тихоокеанский государственный медицинский университет (ТГМУ)
Россия, 690950, г. Владивосток, пр. Острякова, 2*

РЕЗЮМЕ

Обзор литературы посвящен современным данным организации и становления женской половой железы. От момента образования уrogenитальных гребешков до формирования полноценной гонады, на разных этапах онтогенеза экспрессируются огромное количество генов, факторов и белков как в самих первичных половых клетках, так и в их окружении, взаимодействие которых способствует фолликулогенезу и определяет репродуктивное здоровье женщины. Аберрантная продукция этих факторов может быть причиной дисфункции и развития овариальных расстройств. Представлены различные точки зрения на проблему возникновения, миграции и колонизации половых клеток в женской гонаде, а также направления для дальнейших фундаментальных и практических исследований. Развитие и дифференцировка фолликулов представляют собой последовательные события, которые жестко регулируются эндокринными факторами, интраовариальными регуляторами и межклеточными взаимодействиями.

Изначальная миграция зародышевых клеток, размножение их в пределах уrogenитального гребешка требуют регулирования с помощью интегрированных сигналов, таких как факторы роста, транскрипции и дифференцировки, секретлируемые ооцитом, трансформирующие факторы роста, фактор роста и дифференцировки-9, костные морфогенетические белки, фактор стволовых клеток, основной фактор роста фибробластов, опухолевый фактор транскрипции Вильямса, ген фактора стероидогенеза, антимюллеровый гормон, мейоз-регулирующие гены и многие другие, а также контактные взаимодействия зародышевых клеток с внеклеточными белками матрикса и клеточных субстратов притяжения развивающихся гонад. Последние исследования некоторых зарубежных ученых говорят о возможности получения человеческих гамет из культуры стволовых клеток, зная молекулярно-генетические механизмы возникновения, миграции и колонизации половых клеток. Следовательно, понимание всех тонкостей и молекулярных механизмов на каждом этапе закладки и развития яичников, половых клеток и их окружения, гибели гамет, может помочь поиску возможных регуляторов и предотвращению патологического истощения фолликулярного запаса.

Ключевые слова: развитие яичника, молекулярно-генетические механизмы.

ВВЕДЕНИЕ

Репродуктивное здоровье женщины определяется в значительной мере становлением важнейшего органа половой системы – яичника – и зависит от многих факторов. Закладка желточ-

ного мешка, миграция первичных половых клеток в гонады, формирование фолликулов и последующие этапы дифференцировки женских половых желез в большей мере происходят внутриутробно. В связи с этим количество и свойства данных важнейших структур в репродуктивном периоде в значительной степени предопределяются тем, в каких условиях протекал эмбриональный орга-

✉ Зенкина Виктория Геннадьевна, e-mail: zena-74@mail.ru.

ногенез. Среди причин, вызывающих отклонения в половом развитии девушек-подростков, определенную роль играют изменения морфологии и функции яичников, являющиеся следствием происходящих в организме патологических процессов, в том числе и тех, которые имели место во внутриутробный период. В настоящее время считается, что причины и важные этапы патогенеза таких заболеваний, как синдром поликистозных яичников, синдром истощения яичников и других заболеваний, связанных со снижением репродуктивной функции, определяются нарушением развития половых желез девочки в пренатальном периоде [1–4]. Эти положения делают высоко значимыми данные, характеризующие состояние яичников на различных этапах онтогенеза.

Число примордиальных фолликулов – овариальный резерв – является важным фактором, определяющим продолжительность жизни яичников и, следовательно, репродуктивный период. Этот резерв содержит все ооциты, потенциально доступные для оплодотворения в течение фертильного периода жизни. Максимальное число половых клеток устанавливается во время беременности или сразу после родов у большинства видов млекопитающих. В настоящее время нет данных, поддерживающих неофолликулогенез в постнатальном периоде, хотя эта точка зрения все чаще пересматривается. В физиологических условиях эта цифра будет зависеть от числа первичных половых клеток, первоначально определившихся в эпибласте развивающегося эмбриона, их пролиферации во время и после миграции в развивающиеся гонады и их гибели во время оогенеза и формирования примордиальных фолликулов. Смерть зародышевых клеток во время создания резерва яичников происходит, главным образом, путем аутофагии или апоптоза, хотя триггеры, которые инициируют этот процесс, остаются неуловимыми. Последние эксперименты показывают, что зародышевые стволовые клетки не вносят новых ооцитов в резерв яичников у взрослых мышей при нормальных физиологических или патологических состояниях [4–6]. Тем не менее стволовые зародышевые клетки были выделены из постнатальных яичников нескольких видов, включая мышь, крысу, корову и человека, с последующим инкубированием, пролиферацией *in vitro* и имплантацией обратно в яичник. В результате определена способность данных клеток формировать фолликулы и зрелые ооциты, а также, у грызунов, привели к живорождению [7–9]. Физиологическая роль этих клеток, если таковые имеются, в настоящее время неизвестна.

Проблема фолликулогенеза и расходования фолликулярного запаса в течение репродуктивной жизни женщины интересует исследователей многие десятилетия. Стабильность циклической деятельности женской половой системы (яичников, в первую очередь) обеспечивается сложным механизмом прямых и обратных связей с центральной нервной системой, периферическими эндокринными железами, органами иммуногенеза. Вместе с тем практически все регуляторные сигналы, воздействующие на гонады со стороны нейро-иммунноэндокринной системы, реализуются в функциональные ответы яичников с участием многочисленного семейства интраовариальных пара- и аутокринных модуляторов. Подобный механизм интраорганного контроля центральной регуляции овариальных функций сложен и включает множество биологически активных веществ, синтезируемых соматическими и половыми клетками яичников. Эти вещества имеют свойства модуляторов и способны инициировать разные ответы в одних и тех же клетках-мишенях, потенцировать или ослаблять эффекты других (в том числе центральных) сигналов. Важным является синтез в гонадах регуляторных соединений-дублеров, способных заменять действие друг друга. Такая система регуляции может обеспечить наиболее высокие компенсаторные и адаптивные возможности яичника и восстановление (или частичную реабилитацию) его нарушенных функций даже в экстремальных условиях. Подробно изучить данную систему и использовать ее уникальный механизм для профилактики и коррекции дисфункциональных состояний женской репродуктивной системы – одна из важнейших задач биологии репродукции и медицины. Понимание всех тонкостей и молекулярных механизмов на каждом этапе закладки и развития женской половой железы, половых клеток и их окружения, гибели гамет может помочь поиску возможных регуляторов и предотвращению патологической гибели половых клеток.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ ЯИЧНИКОВ

Развитие женской гонады начинается на медиальной стороне первичной почки с образования гребневидных утолщений, называемых половыми валиками, – будущие гонады. Составными элементами развивающихся яичников являются: 1) специальные клетки, дающие начало половым клеткам – оогониям; 2) производные целомического эпителия – будущие эпителиальные элементы половых желез; 3) мезенхимная

ткань – будущие соединительнотканые и мышечные элементы. Появление этих структур, их трансформация и взаимоотношения чрезвычайно сложны [7, 10]. В последние годы механизмы данного процесса были значительно дополнены молекулярно-биологическими исследованиями [7, 11–15]. Из-за трудностей в изучении этих процессов в яичнике плода человека существует сравнительно мало данных. В отличие от человека есть полный набор данных для мыши, который можно использовать в качестве приемлемой модели, чередуя с человеческими данными, если таковые имеются.

В образовании уrogenитальных гребешков (предшественников гонад) важнейшую роль играет экспрессия генов *Wt1* (ген опухоли Вильямса), *St1* (ген фактора стероидогенеза) (рис.) [16]. При отсутствии экспрессии этих генов формирования гонад не происходит на стадии уrogenитальных гребешков. Другим важнейшим процессом является дифференцировка гонад по женскому типу, зависящая от экспрессии гена *SRY* в фетальных клетках Сертоли примерно с 9-й нед развития, который расположен на Y-хромосоме. Женский фенотип возникает только при отсутствии экспрессии этого гена [13]. Однако существует мнение, что есть неизвестный ген *Z*, который служит антагонистом гена *SRY*, экспрессия которого вызывает развитие гонад по женскому пути у лиц с генотипом XY. Повышенная экспрессия еще одного гена *Dax* определяет развитие мышинных эмбрионов с кариотипом XY

по женскому типу, в то время как блокирование экспрессии гена *Wnt4* ведет к маскулинизации эмбрионов с генотипом XX. Также показано, что *Wnt4* необходим для поддержания деления линии женских первичных половых клеток и супрессии дифференцировки предшественников клеток Лейдига [13]. Следовательно, уже на этапе закладки женской гонады имеются несколько генов, способствующих данному процессу.

При участии коннексина 43, отвечающего за образование щелевых межклеточных контактов, вышеописанные факторы несут ответственность за морфогенез женской гонады [17]. Коннексин участвует в образовании межклеточных контактов между клетками гранулезы и ооцитом, а также в процессах атрезии фолликулов. Так, у мышей, мутантных по гену коннексина *CX43*, имеются серьезные нарушения в образовании примордиальных фолликулов [16]. После миграции и начала колонизации первичных половых клеток недифференцированных гонад развитие последних зависит от экспрессии факторов, специфичных для соматических клеток уrogenитальных гребешков. К ним относятся факторы транскрипции *Lbx1* и *Lbx9*, *Wt1*, *Sf1*, *DAX-1*, *Star*. Экспрессия этих генов наблюдается в разные периоды формирования гонад и необходима для половой дифференцировки и синтеза стероидов [7]. В агрегации клеток при колонизации уrogenитальных гребешков играют важную роль E-кадгерин и P-кадгерин, которые экспрессируются в предшественниках клеток Сертоли (см. рис.) [18].

I. Формирование уrogenитального гребешка

- экспрессия генов: *Wt1*, *St1* ⇨ предшественники гонад

II. Дифференцировка гонад по женскому типу

развивающееся корковое вещество
индифферентной половой железы

- экспрессия гена *SRY* первичные половые клетки - ген *Z* - антагонист *SRY*

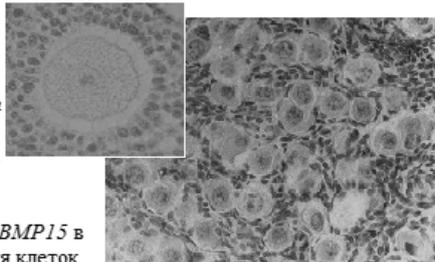


III. Размножение, колонизация половых клеток в яичниках

- экспрессия гена *Wnt4* и размножение ППК

- экспрессия гена *FIG* в ооците и синтез белков ZP1, ZP2, ZP3 - zona pellucida

- экспрессия *CDF9* и *BMP15* в ооците и пролиферация клеток гранулезы



- экспрессия гена коннексина *CX43* и формирование примордиальных фолликулов

- экспрессия генов *SCP3* и *DMC1*, с последующей стимуляцией мейоза в ооцитах

Рисунок. Участие различных генов в формировании яичника
Figure. Participation of various genes in the formation of the ovary

Не менее важна роль ооцитов в формировании фолликулов формирующейся гонады, ведь самое важное предназначение женской половой железы – обеспечение фертильности и гормонального баланса. При отсутствии ооцитов соматические клетки гонады приобретают морфологические признаки клеток Сертоли [19]. Первичные половые клетки, не попавшие в формирующиеся гонады, обычно гибнут, но могут стать причиной возникновения новообразований (тератом, дермоидных кист) [11, 20]. Был обнаружен ген *TER*, мутация в котором вызывает уменьшение количества первичных половых клеток и увеличение числа тератом [11, 13]. В одном из английских исследований обнаружена экспрессия гена *NALP5*, представляющего собой ооцит-специфический агент, вероятно, играющий ключевую роль в формировании первичного фолликула у человека, и, следовательно, участвующий в формировании фолликулярного резерва наряду с вышеуказанными факторами [21].

Недавно был описан фактор, запускающий формирование блестящей оболочки (*zona pellucida*) в примордиальных фетальных фолликулах (factor in germline (FIG), фактор линии половых клеток). У мышей, мутантных по данному гену, отсутствуют фолликулы в яичниках, тогда как мужские особи остаются фертильными. Экспрессия ооцитом факторов роста и дифференцировки *CDF1* и *CDF9* и *BMP15* необходима для начала пролиферации клеток гранулезы, в то же время продукция клетками гранулезы антимюллерового гормона необходима для первых стадий роста фолликула (см. рис.) [16, 17, 19, 22, 23].

Выживаемость фолликулов контролируется несколькими аутокринными и (или) паракринными факторами роста, которые либо продуцируются ооцитом, либо соматическими клетками, участвующими в развитии фолликулов [17]. *Gdf9* и *Bmp15* являются ооцит-специфическими белками, играющими синергическую роль в фолликулогенезе и контролируя пролиферацию и дифференцировку соматических клеток [17, 23], в то время как другой фактор роста, *kit*-лиганд, выделенный из гранулезных клеток, участвует в митотических преобразованиях. Экспрессия факторов, стимулирующих рост и поддержание фолликулярного резерва, сильно ослаблена в фолликуло-дефицитном яичнике, но по мере увеличения фолликулярного кванта, после трансплантации яичников увеличивалась экспрессия мРНК, кодирующих синтез *gdf9*, *bmp15* и *kit*-лиганда, которые, возможно, восстанавливают межкомпарментную связь и уменьшают скорость

фолликулярной атрезии [23]. У млекопитающих первичные фолликулы генерируются на ранней стадии жизни и остаются в состоянии покоя в течение длительного периода. Фолликулярный рост возобновляется через процесс, известный как активация первичных фолликулов [17].

Таким образом, процесс формирования женской гонады реализуется через экспрессию некоторого количества генов, а также с участием различных факторов и белков, выделяемых как самими первичными половыми клетками, так и окружающими соматическими кластерами. Образование половых желез может нарушиться на любом этапе закладки, но структурно-функциональные нарушения диагностируются значительно позже, часто в репродуктивном возрасте.

ПРОИСХОЖДЕНИЕ, МИГРАЦИЯ И КОЛОНИЗАЦИЯ ПЕРВИЧНЫХ ПОЛОВЫХ КЛЕТОК

Половые клетки (гоноциты) независимо от будущего пола возникают у зародыша человека, когда он уже состоит из многих тысяч клеток. Они развиваются из специального зачатка – гонобласта – части эпибласта, и первичная специализация первичных половых клеток происходит во время гаструляции [24, 25]. У человека наиболее рано первичные половые клетки были обнаружены на стадии 16–32 сомитов. Гоноциты относятся к крупным клеткам, имеют характерные крупные ядра и, как правило, округлую форму. Цитохимическими их характеристиками являются наличие в цитоплазме желтка, богатство гликогеном, а также высокая активность щелочной фосфатазы. Первое появление половых клеток отмечено в области краниальной зоны зародышевого щитка, а впоследствии большая часть гоноцитов сосредоточена в энтодерме желточного мешка. Гоноциты в этот период активно пролиферируют. Во время пребывания гоноцитов в желточном мешке наряду с интенсивно размножающимися клетками происходит довольно активный процесс их дегенерации [10, 25].

Возникновение половых клеток происходит во внезародышевой энтодерме под воздействием факторов роста *Bmp4* (bone morphogenetic protein4) и *Bmp8b*, которые продуцируются клетками соседней внезародышевой эктодермы, а также *Bmp2*, вырабатывающегося в гипобласте – внезародышевой энтодерме [7]. Морфогенетически данные белки относятся к суперсемейству трансформирующего фактора роста бета (TGFB). Есть мнение, что возникновение первичных половых

клеток вызывается экспрессией не только вышеперечисленных факторов, но и Sox17, градиентом *Vmp4* и *Wnt3*, а также под влиянием ингибирующих факторов, таких как *Cer1*, *Dkk1* и *Lefty1*, исходящих из передней висцеральной энтодермы [24].

Характерной чертой первичных половых клеток высших млекопитающих и человека является экспрессия гена *OCT-4*, отвечающего за тотипотентность, которая исчезает во время первой же специализации клеток в бластоцисте – формировании трофобласта, но в клетках внутренней клеточной массы экспрессия данного гена сохраняется [26]. Ко времени возникновения первичных половых клеток на 5–6-й нед гестации экспрессия *OCT-4* является фактически их маркером до начала вхождения в митоз, т.е. все время присутствия оогоний.

Миграция половых клеток из желточного мешка в область половых валиков начинается с последних дней третьей недели и происходит с током крови или путем их амебоидных движений через мезенхиму стенки задней кишки, вдоль ее брызжейки. К 7-м сут гестации от момента оплодотворения (мышь) кластер эмбриональных стволовых клеток состоит из 45 предшественников, которые отлично визуализируются с помощью окрашивания на щелочную фосфатазу. Эти клетки также экспрессируют транскрипционные факторы *Blimp1* и *Prdm14*, которые отвечают за судьбу индукции зародышевых клеток [27, 28]. Изменение степени экспрессии, преемственности, транскрипционного профиля всех указанных факторов может оказать большое влияние на количество зародышевых клеток, которые в конечном итоге вступят в мейоз.

После ограничения тотипотентности, примерно на 8-е сут от оплодотворения (мышь) среднее число эмбриональных стволовых клеток составляет 124 (93–193) с последующим удвоением через неделю [29]. Начиная с 8-х сут, энтодерма инвагинирует с целью формирования задней кишки и первичные половые клетки начинают миграцию вдоль нее. Большинство первичных половых клеток достигают уrogenитальных гребешков, но небольшая часть гибнет путем апоптоза во время миграции [29, 30].

Другим маркером, способствующим образованию, миграции и колонизации первичных половых клеток, является тирозинкиназовый рецептор *c-kit* [11, 17]. Он определяется в клетках гранулезы на всех этапах развития фолликула и способствует взаимодействию половых клеток с окружающими гранулезными, поддерживает выживание первичных половых клеток во время их миграции и раз-

множения наряду с $\alpha 2$, $\alpha 3$, 6, V, $\beta 1$ -интегринами и *Fgf8* [11, 19]. Лиганд *kit* был отмечен многочисленными исследованиями в качестве критического регулятора активации первичных фолликулов. *Kit*-лиганд связывается со своим рецептором и подает сигналы по нескольким путям, включая PI3K, которые особенно важны для развития яйцеников [17]. Китовый рецептор экспрессируется на мембранах ооцитов и теки, в то время как *kit*-лиганд продуцируется именно клетками гранулезы и действует как паракринный фактор.

Триггером в специализации первичных половых клеток, по мнению некоторых авторов, является выделение клетками внезародышевой энтодермы и эктодермы факторов – членов суперсемейства трансформирующего фактора роста- β (*Bmp2*, *Bmp4* и *Bmp8b*). Совместное действие перечисленных факторов на плюрипотентные клетки эпибласта активирует факторы *Smad-1* и *Smad-2*, а по некоторым источникам *Smad-1*, -4, -5, -8 [31, 32], являющиеся внутриклеточными сигнальными молекулами для *Bmp* и, в свою очередь, стимулирующие экспрессию генов, вызывающих дифференцировку и специализацию первичных половых клеток [13, 17, 33].

Считалось, что в составе эпибласта нет клеток, избирательно детерминированных на развитие предшественников первичных половых клеток. Лишь те клетки, которые подверглись воздействию сигнальных молекул *Bmp*, дифференцируются по пути половой линии. Однако было показано, что в эпибласте только клетки его проксимального отдела восприимчивы к действию сигнальных молекул *Bmp4*. Это связано с тем, что лишь в данных клетках имеет место специфическая выработка фактора *Smad-5*. Поэтому только из клеток проксимального эпибласта начинается формирование предшественников первичных половых клеток [17, 33].

Колонизация первичных половых клеток уrogenитальных гребешков с образованием первичных гонад является важнейшим этапом в становлении репродуктивной функции. Если первичные половые клетки возникают на 5–6-й нед развития (человек), то мейотический процесс и формирование первых фолликулов начинаются уже на 8-й нед [11, 20, 22]. Колонизации половых клеток способствует экспрессия генов *ErbB2* и *ErbB3*, являющихся тирозинкиназными рецепторами. Одновременно с этим в соматических клетках формирующихся гонад идет активная экспрессия белка нейрорегулина- β , лиганда к рецепторам *ErbB2* и *ErbB3* (см. рис.). Считается, что нейрорегулин является важным фактором деления половых клеток [22].

Немаловажным регулятором миграции и колонизации гонад является ген *vasa* – маркер первичных половых клеток после завершения миграции в урогенитальные гребешки [16]. Начиная от 124 первичных половых клеток на 8-е сут гестации (мышь), число их экспоненциально возрастает примерно до 15 тыс. оогоний в яичнике на 15–16-е сут к моменту завершения митоза, по данным некоторых авторов [35]. На протяжении остальных недель беременности происходит массовая гибель половых клеток, но, по некоторым данным, к моменту рождения все же сохраняется около 7 тыс. ооцитов [35–37]. Следовательно, зародышевый клеточный маркер *vasa* обнаруживается в плодном яичнике с ранних этапов оогенеза и заметно выражен в примордиальных фолликулах, и совершенно не экспрессируется во взрослой гонаде [38]. Ограниченные данные по человеку свидетельствуют о том, что существует максимум около 5 млн зародышевых половых клеток в сроке беременности 20 нед, с последующим резким уменьшением численности [39]. Хотя начало мейотических преобразований происходит на 9–11-й нед, митоз продолжается в более периферийно расположенных зародышевых клетках в течение многих недель и даже после формирования первых примордиальных фолликулов [40–43]. Пролиферация оогоний крайне чувствительна к различным факторам окружающей среды, включая гипоксию, токсические и лекарственные вещества, сигаретный дым и биологические агенты [37, 39]. Следовательно, и вариабельность в количественном соотношении оогоний и ооцитов также значительна. Внутриклеточная локализация *vasa* в покоящихся фолликулах, возможно, может использоваться как маркер первичного фолликулярного резерва покоящихся примордиальных фолликулов с прогностической целью, особенно у младенцев, вступающих в программу криоконсервации яичников.

На 12,5–13,5 сут гестации оогонии начинают развиваться в «гнездах» (кластерах), усиленно размножаясь митозом. Они взаимодействуют с соматическими или прегранулезными клетками и становятся организованными в фолликулярные шнуры – предшественники примордиальных фолликулов [21, 44]. Оогонии в гнездах, не вступившие в мейоз, могут размножаться и удерживать межклеточные мостики, которые позволяют обмениваться мРНК miRs, протеинами и органеллами [20]. Было высказано предположение, что стероидные гормоны в крови матери поддерживают жизнеспособность яйценосных шнуров, предотвращая гибель ооцитов, в то время как к

концу беременности и в родах резко возрастающий уровень эстрадиола способствует дегенерации гнезд и потери ооцитов [45]. Эстрогенное регулирование распада гнезд было продемонстрировано на приматах, а также наличие рецепторов к эстрогенам в клетках зародыша человека в момент формирования фолликула дает возможность предполагать данный факт и у человека [46]. Яйцеклетки, погибающие при дегенерации гнезд, возможно, функционируют в качестве трофоцитов для оставшихся в живых ооцитов, предоставляя им небольшое количество метаболитов, энергии и митохондрий, чтобы поддержать их дальнейшее развитие [5, 12]. Разделение яйценосных шнуров необходимо для разграничения и установки межклеточных взаимодействий между зародышевыми клетками и соматическими с образованием примордиальных фолликулов, в которых и произойдет остановка мейоза [21, 44, 47]. Все факторы и механизмы, регулирующие распад яйценосных шнуров и смерть ооцитов, до настоящего времени не выяснены. Но в 2013 г. опубликованы данные о роли поверхностного эпителия в развитии яйценосных шнуров (гнезд) и примордиальных фолликулов в яичниках коров, а также об экспрессии некоторых белков – маркеров пролиферации и апоптоза [48].

Значительное увеличение митотических фигур и пролиферация клеток отмечены в поверхностном эпителии и гнездах половых клеток с положительным окрашиванием на белок S100. Интенсивность окрашивания повышалась параллельно увеличению размеров ооцита и фолликула. На более поздних стадиях развития фолликула выраженная экспрессия S100 наблюдалась в здоровых ооцитах и отсутствовала в атретических [49]. Следовательно, S100-позитивные ооциты примордиальных и более зрелых фолликулов совместно с K167-положительным индексом в окружающих гранулезных клетках могут быть полезным маркером для интактных ооцитов в яичниках млекопитающих.

По мере окончания митотических делений и вступления в период роста и мейоза уменьшается экспрессия таких генов, как *Oct4* и *Lin28*, и усиливается – мейоз-регулирующего гена *Scp3* [41, 49]. Вступление в мейоз в первую очередь определяется воздействием ретиноевой кислоты у мышей из мезонефроса и возрастающей компетентностью зародышевых клеток [13]. В это время наблюдается волна апоптотической гибели оогоний, которые становятся ооцитами. Процесс мейотических преобразований происходит всю оставшуюся беременность и завершается в течение первых 5 сут (у мышей) на стадии диплотены мейоза [41, 50].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Подводя итог, можно сказать, что ранние этапы закладки женской гонады и формирования важнейших структур – фолликулов – контролируются множеством различных факторов, гены которых экспрессируются как в самих первичных половых клетках, так и в их окружении. Развитие и дифференцировка фолликулов представляют собой последовательные события, которые жестко регулируются эндокринными факторами, интраовариальными регуляторами и межклеточными взаимодействиями. Сбалансированный процесс клеточной пролиферации и апоптоза играет важную роль и в выборе доминантного фолликула. Изначальная миграция зародышевых клеток, размножение их в пределах уrogenитального гребешка требуют регулирования с помощью интегрированных сигналов, таких как факторы роста, секретлируемые ооцитом, фактор роста и дифференцировки-9, костные морфогенетические белки, фактор стволовых клеток, основной фактор роста фибробластов, опухолевый фактор транскрипции Вильямса, а также контактные взаимодействия зародышевых клеток с внеклеточными белками матрикса и клеточных субстратов притяжения развивающихся гонад. Последние исследования некоторых зарубежных ученых говорят о возможности получения человеческих гамет из культуры стволовых клеток, зная молекулярно-генетические механизмы возникновения, миграции и колонизации половых клеток, что не всегда оправдано с точки зрения морально-этических последствий.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Sato E., Kimura N., Yokoo M., Miyake Y. et al. Morphodynamics of ovarian follicles during oogenesis in mice. *Microsc. Res. and Techn.* 2006; 69 (6): 427–435. DOI: 10.1002/jemt.20302.
2. Зенкина В.Г., Каредина В.С., Солодкова О.А. и др. Морфология яичников андрогенизированных крыс на фоне приема экстракта из кукумарии. *Тихоокеанский медицинский журнал.* 2007; 4: 70–72. [Zenkina V.G., Karegina V.S., Solodkova O.A. et al. Morphology of the ovarian androgenated rats against the background of the extract from the *Cucumaria*. *Tibookoenskij medicinskij zbornal – Pacific medical journal.* 2007; 4: 70–72 (in Russ.)].
3. Зенкина В.Г. Факторы ангиогенеза при развитии физиологических и патологических процессов женской гонады. *Бюллетень сибирской медицины.* 2016; 15 (4): 111–119. [Zenkina V.G. Factors of angiogenesis in the development of the physiological and pathological processes of the female gonad. *Byulleten' sibirskoy meditsiny – Bulletin of Siberian Medicine.* 2016; 15 (4): 111–119 (in Russ.)].
4. Киروشка В.В., Тищенко Ю.О. Динамика фолликулогенеза половозрелой и неонатальной овариальной ткани в условиях длительной гетеротопической трансплантации. *Журн. эволюц. биохимии и физиол.* 2012; 48 (2): 160–168. [Kiroshka V.V., Tishchenko Yu.O. Dynamics of folliculogenesis of sexually mature and neonatal ovarian tissue in conditions of prolonged heterotopic transplantation. *Zburnal evolyutsionnoy biokhimii i fiziologii – Journal of Biochemistry Evolutions and Physioles.* 2012; 48 (2): 160–168 (in Russ.)].
5. Lei L., Spradling A.C. Female mice lack adult germ-line stem cells but sustain oogenesis using stable primordial follicles. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 2013; 110: 8585–8590. DOI: 10.1073/pnas.1306189110.
6. Zhang H., Liu L., Busayavalasa K., Shen Y. et al. Life-long in vitro cell-lineage tracing shows that no oogenesis originates from putative stem cells in adult mice. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 2014; 111: 17983–17988. DOI: 10.1073/pnas.1421047111.
7. Tatone C., Amicarelli F., Carbone M.C. et al. Cellular and molecular aspects of ovarian follicle ageing. *Hum. Reprod. Update.* 2008; 14: 131–142. DOI: 10.1093/humupd/dmm048.
8. Zou K., Yuan Z., Luo H. et al. Production of offspring from a germline stem cell line derived from neonatal ovaries. *Nat. Cell Biol.* 2009; 11: 631–636. DOI: 10.1038/ncb1869.
9. White Y.A., Woods D.C., Takai Y. et al. Oocyte formation by mitotically active germ cells purified from ovaries of reproductive-age women. *Nat. Med.* 2012; 18: 413–421. DOI: 10.1038/nm.2669.
10. Петренко В.М. Основы эмбриологии. Вопросы развития в анатомии человека. СПб.: СПбГМА: Издательство ДЕАН, 2003: 400. [Petrenko V.M. [Fundamentals of embryology. Developmental issues in human anatomy. SPb.: SPbGMA: Publishing house DEAN, 2003: 400 (in Russ.)].
11. Боярский К.Ю. Молекулярные основы формирования фетального яичника и получение гамет из стволовых клеток. *Проблемы репродукции.* 2004; 5: 15–21. [Boyarskiy K.Yu. Molecular foundations of fetal ovary formation and obtaining gametes from stem cells. *Problemy reproduktivnoy – Problems of reproduction.* 2004; 5: 15–21 (in Russ.)].
12. Allegrucci C., Thurston A., Lucas E. et al. Epigenetics and the germline. *Reproduction.* 2005; 129: 137–149.
13. Bowles J., Koopman P. Sex determination in mammalian germ cells: extrinsic versus intrinsic factors. *Reproduction.* 2010; 139: 943–958. DOI: 10.1530/REP-10-0075.

14. Monget P., Bobe J., Gougeon A. et al. The ovarian reserve in mammals: a functional and evolutionary perspective. *Mol. Cell Endocrinol.* 2012; 356 (1–2): 2–12. DOI: 10.1016/j.mce.2011.07.046.
15. Monniaux D., Michel P., Postel M. et al. Multi-scale modelling of ovarian follicular development: From follicular morphogenesis to selection for ovulation. *Biol. Cell.* 2016; 108 (6): 149–160. DOI: 10.1111/boc.201500087.
16. Liu Y.X. Advanced studies on ovary physiology in China in the past 30 years. *Sheng Li Xue Bao.* 2016; 68 (4): 366–384.
17. Banerjee S., Banerjee S., Saraswat G. et al. Female reproductive aging is master-planned at the level of ovary. *PLoS One.* 2014; 9 (5): e96210. DOI: 10.1371/journal.pone.0096210.
18. Schlichting K., Wilsch-Braninger M., Demontis F. et al. Cadherin Cad99C is required for normal microvilli morphology in Drosophila follicle cells. *J. Cell Sci.* 2006; 119 (Pt. 6): 1184–1195.
19. Epifano O., Dean J. Genetic control of early folliculogenesis in mice. *Trends in Endocrinology and Metabolism.* 2002; 13 (4): 169–173.
20. Jiajie T., Yanzhou Y., Hoi-Hung A.C. et al. Conserved miR-10 family represses proliferation and induces apoptosis in ovarian granulosa cells. *Sci Rep.* 2017; 7: 41304. DOI: 10.1038/srep41304.
21. Fowler P.A., Flannigan S., Mathers A. et al. Gene expression analysis of human fetal ovarian primordial follicle formation. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2009; 94 (4): 1427–1435. DOI: 10.1210/jc.2008-2619.
22. Ara T., Nakamura Y., Egawa T. et al. Impaired colonization of the gonads by primordial germ cells in mice lacking a chemokine, stromal cell-derived factor-1 (SDF-1). *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 2003; 100 (9): 5319–5323.
23. Silva P.V., Guimarras S.E., Guimarras J.D. et al. Follicular dynamics and gene expression in granulosa cells, corpora lutea and oocytes from gilts of breeds with low and high ovulation rates. *Reprod Fertil. Dev.* 2014; 26 (2): 316–327. DOI: 10.1071/RD12257.
24. Magnusdottir E., Surani A. How to make a primordial germ cell. *Development.* 2014; 141: 245–252. DOI: 10.1242/dev.098269
25. Findlay J.K., Hutt K.J., Hickey M. et al. How Is the Number of Primordial Follicles in the Ovarian Reserve Established? *Biol. Reprod.* 2015; 93 (5): 111. DOI: 10.1095/biolreprod.115.133652.
26. Pesce M., Scholer H. Oct-4: Gatekeeper in the beginnings of mammalian development. *Stem Cells.* 2001; 19 (4): 271–278.
27. Ohinata Y., Payer B., O'Carroll D. et al. Blimp1 is a critical determinant of the germ cell lineage in mice. *Nature.* 2005; 436 (7048): 207–213.
28. Kurimoto K., Yabuta Y., Ohinata Y. et al. Complex genome wide transcription dynamics orchestrated by Blimp1 for the specification of the germ cell lineage in mice. *Genes Dev.* 2008; 22 (12): 1617–1635. DOI: 10.1101/gad.1649908.
29. Møllgerd K., Jespersen A., Lutterodt M.C. et al. Human primordial germ cells migrate along nerve fibers and Schwann cells from the dorsal hind gut mesentery to the gonadal ridge. *Mol. Hum. Reprod.* 2010; 16 (9): 621–631. DOI: <https://doi.org/10.1093/molehr/gaq052>.
30. Зенкина В.Г. Значение апоптоза в яичниках при развитии некоторых заболеваний репродуктивной системы. *Фундаментальные исследования.* 2011; 6: 227–230. [Zenkina V.G. The importance of apoptosis in the ovaries in the development of certain diseases of the reproductive system. *Fundamental'nye issledovaniya – Fundamental research.* 2011; 6: 227–230 (in Russ.)].
31. Park Y., Maizels E.T., Feiger Z.J. et al. Induction of cyclin D2 in rat granulosa cells requires FSH-dependent relief from FOXO1 repression coupled with positive signals from Smad. *The Journal of Biological Chemistry.* 2005; 280 (10): 9135–9148.
32. Chu H.P., Liao Y., Novak J.S. et al. Germline quality control: eFK2K stands guard to eliminate defective oocytes. *Dev. Cell.* 2014; 28 (5): 561–572. DOI: 10.1016/j.devcel.2014.01.027.
33. Ying Y., Zhao G.Q. Cooperation of endoderm-derived BMP2 and extraembryonic ectoderm-derived BMP4 in primordial germ cell generation in mouse. *Dev. Biol.* 2001; 232 (2): 484–492.
34. Zhang J.Q., Gao B.W., Wang J. et al. Critical Role of FoxO1 in Granulosa Cell Apoptosis Caused by Oxidative Stress and Protective Effects of Grape Seed Procyanidin B2. *Oxid Med Cell Longev.* 2016; 2016: 6147345. DOI: 10.1155/2016/6147345.
35. Myers M., Morgan F.H., Liew S.H. et al. PUMA regulates germ cell loss and primordial follicle endowment in mice. *Reproduction.* 2014; 148 (2): 211–219. DOI: 10.1530/REP-13-0666.
36. Kerr J.B., Duckett R., Myers M. et al. Quantification of healthy follicles in the neonatal and adult mouse ovary: evidence for maintenance of primordial follicle supply. *Reproduction.* 2006; 132 (1): 95–109.
37. Anderson R.A., McIlwain L., Coutts S. et al. Activation of the aryl hydrocarbon receptor by a component of cigarette smoke reduces germ cell proliferation in the human fetal ovary. *Mol. Hum. Reprod.* 2014; 20 (1): 42–48. DOI: 10.1093/molehr/gat059.
38. Albamonte M.I., Albamonte M.S., Stella I. et al. The infant and pubertal human ovary: Balbiani's body-associated VASA expression, immunohistochemical detection of apoptosis-related BCL2 and BAX proteins, and DNA fragmentation. *Hum. Reprod.* 2013; 28 (3): 698–706. DOI: 10.1093/humrep/des453.
39. Mamsen L.S., Lutterodt M.C., Andersen E.W. et al. Germ cell numbers in human embryonic and fetal gonads during the first two trimesters of pregnancy: analysis of six published studies. *Hum. Reprod.* 2011; 26 (8): 2140–2145. DOI: 10.1093/humrep/der149.
40. Fulton N., Martins da Silva S.J. et al. Germ cell proliferation and apoptosis in the developing human ovary.

- J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2005; 90 (8): 4664–4670.
41. Ma W., Zhang D., Hou Y. et al. Reduced expression of MAD2, BCL2, and MAP kinase activity in pig oocytes after in vitro aging are associated with defects in sister chromatid segregation during meiosis II and embryo fragmentation after activation. *Biol. Reprod.* 2005; 72 (2): 373–383.
 42. Bendsen E., Byskov A.G., Andersen C.Y. et al. Number of germ cells and somatic cells in human fetal ovaries during the first weeks after sex differentiation. *Hum. Reprod.* 2006; 21 (1): 30–35.
 43. Klinger F.G., Rossi V., De Felici M. Multifaceted programmed cell death in the mammalian fetal ovary. *Int. J. Dev. Biol.* 2015; 59 (1–3): 51–54. DOI: 10.1387/ijdb.150063fk.
 44. Pepling M.E. From primordial germ cell to primordial follicle: mammalian female germ cell development. *Genesis.* 2006; 44 (12): 622–632.
 45. Dutta S., Mark-Kappeler C.J., Hoyer P.B. et al. The steroid hormone environment during primordial follicle formation in perinatal mouse ovaries. *Biol. Reprod.* 2014; 91 (3): 68. DOI: 10.1095/biolreprod.114.119214.
 46. Pepe G.J., Billiar R.B., Albrecht E.D. Regulation of baboon fetal ovarian folliculogenesis by estrogen. *Mol. Cell Endocrinol.* 2006; 247 (1–2): 41–46.
 47. Tian N., Zhang L., Zheng J.H. et al. Three-dimensional quantitative analysis of chromosomes in the oocytes of aging mice during meiosis I in vitro. *Theriogenology.* 2013; 79 (2): 249–256. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2012.08.010.
 48. Kennngott R.A., Vermehren M., Ebach K. et al. The role of ovarian surface epithelium in folliculogenesis during fetal development of the bovine ovary: a histological and immunohistochemical study. *Sex Dev.* 2013; 7 (4): 180–195. DOI: 10.1159/000348881.
 49. Childs A.J., Kinnell H.L., He J. et al. LIN28 is selectively expressed by primordial and pre-meiotic germ cells in the human fetal ovary. *Stem Cells Dev.* 2012; 21 (13): 2343–2349. DOI: 10.1089/scd.2011.0730.
 50. Gartner A., Boag P.R., Blackwell T.K. Germline survival and apoptosis. *WormBook.* 2008; 4: 1–20. DOI: 10.1895/wormbook.1.145.1.

Поступила в редакцию 18.05.2017

Подписана в печать 24.04.2018

Зенкина Виктория Геннадьевна, канд. мед. наук, доцент, зав. кафедрой биологии, ботаники и экологии, ТГМУ, г. Владивосток.

Солодкова Оксана Алексеевна, канд. мед. наук, доцент, кафедра биологии, ботаники и экологии, ТГМУ, г. Владивосток.

(✉) Зенкина Виктория Геннадьевна, e-mail: zena-74@mail.ru.

УДК 612.621:577.2

DOI: 10.20538/1682-0363-2018-2-133-142

For citation: Zenkina V.G., Solodkova O.A. Molecular genetic mechanisms of ovarian organization and development. *Bulletin of Siberian Medicine.* 2018; 17 (2): 133–142.

Molecular genetic mechanisms of ovarian organization and development

Zenkina V.G., Solodkova O.A.

Pacific State Medical University

1, Ostryukova Str., Vladivostok, 690950, Russian Federation

ABSTRACT

A review of the literature devoted to the analysis of conditions and development of the female reproductive gland. From the moment of the formation of urogenital scallops to the formation of a full gonad, at the different stages of ontogeny, a huge number of genes, factors and proteins are expressed, since in them the primary sex cells and in their surroundings render folliculogenesis and determine the reproductive health of a woman. Aberrant production of these factors can be the cause of ovarian dysfunction and disorders. Different points of view on the emergence of the problem of migration and colonization of germ cells in female gonads, as well as directions for further fundamental and practical research. The development and differentiation of the follicle is a succession of events that are tightly regulated by endocrine factors, intraocular regulators and

intercellular interactions. The initial migration of germ cells and their multiplication within the urogenital canal require regulation using integrated signals such as growth factors, transcription and differentiation, secreted oocytes, transforming growth factors, growth factor and differentiation-9, bone morphogenetic proteins, stem cell factor, basic growth factor of fibroblasts, tumor factor of Williams transcription, gene steroidogenesis, antimulyerov hormone, meiosis-regulating genes and many others, as well as a contact these interactions of germ cells with extracellular matrix proteins and cellular substrates attract the developing gonads. Recent studies indicate the possibility of obtaining human gametes from the culture of stem cells, a distinct molecular genetic mechanism of the origin, migration and colonization of the sex cells. Consequently, the understanding that all the subtleties and molecular mechanisms at each stage of the bookmarking and development of the ovaries, germ cells and their environment, the death of gametes, can help in finding regulators and preventing pathological follicular depletion.

Key words: ovarian development, molecular genetic mechanisms.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

SOURCE OF FINANCING

The authors state that there is no funding for the study.

Received 18.05.2017
Accepted 24.04.2018

Zenkina Viktoriya G., PhD, Associate Professor, Head of the Department of Biology, Botany and Ecology, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation.

Solodkova Oksana A., PhD, Associate Professor, Department of Biology, Botany and Ecology, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation.

(✉) **Zenkina Viktoriya G.**, e-mail: zena-74@mail.ru.