

ВАГИН Ю.В., ВАГИНА И.Н.

Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины

Украина, 03680, Киев, Ул. Заболотного, 150, e.mail: maliuta@imbg.org.ua

ЭМБРИОНАЛЬНАЯ ДИАПАУЗА У МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Ранняя беременность у некоторых представителей млекопитающих характеризуется наличием эмбриональной диапаузы – задержки имплантации эмбрионов на стадии бластоцисты [1]. Эмбриональная диапауза встречается у многих видов позвоночных, однако физиологические механизмы, контролирующие этот процесс, чрезвычайно разнообразны. Так у многих плотоядных, в т. ч. и американских норок *Mustela vison* (*M. vison*), эмбриональная диапауза является облигатной, поскольку характерна для нормального течения беременностей у большинства самок [2]. По общему мнению, она возникла в процессе эволюции видов как своеобразный популяционный механизм адаптации особей, обеспечивающий координацию родов, направленную на достижение наиболее благоприятных сроков рождения потомства [1].

Наряду с облигатной эмбриональной диапаузой существует также факультативная эмбриональная диапауза. Она, в частности, широко распространена среди мышевидных грызунов и часто вызывается лактацией [2]. Факультативная задержка имплантации имеет селективное преимущество в том, что позволяет самке быть беременной в течение всего сезона размножения без перекрытия последовательных периодов лактации. Если что-либо случится с выкармливаемым потомством, то эмбриональное развитие возобновится, и следующий помет будет произведен без потери времени. Таким образом, эта репродуктивная адаптация позволяет производить максимальное число помётов в сезон размножения, тем самым способствуя выживанию вида.

У мышевидных грызунов наряду с факультативной эмбриональной диапаузой, обусловленной естественными причинами, задержку имплантации можно индуцировать экспериментально. Так, овариэктомия самок мышей, проведенная утром четвертого дня беременности накануне предполагаемого подъёма концентрации эстрогена, приводила к срыву имплантации и инициировала состояние «покоя» бластоцист [3]. Это состояние можно продолжительно поддерживать, ежедневным введением прогестерона, который совместно с остаточным эстрогеном поддерживал жизнеспособность бластоцист [4]. Пересадка бластоцист мышей с задержанной имплантацией псевдобеременным реципиентам приводит к активации имплантации бластоцист, в то время как, пересадка активированных бластоцист в матку овариэктомизированных, обработанных прогестероном самок, способствует вхождению в состояние диапаузы. Однако бластоцисты в состоянии покоя, культивированные в присутствии или отсутствии прогестерона или эстрогена не изменяли уровня метаболизма [5]. Эти экспериментальные данные свидетельствуют о том, что овариальные стероиды воздействуют на матку а не на бластоцисты, вызывая возобновление развития и имплантацию.

Во время диапаузы бластоцисты пребывают в состоянии митотического покоя. Однако при этом у них фиксируется определенный уровень метаболической активности. При задержанной имплантации состав среды в матке характеризуется наличием ряда

белков и стероидных гормонов [1, 2, 6]. Они, в первую очередь, необходимы для поддержания жизнеспособности «покоящихся» эмбрионов. Продолжительность диапаузы у американских норок положительно коррелирует с уровнями эмбриональных потерь [7]. Как и у большинства представителей семейства кунных, у норок она варьирует и составляет, в среднем, около 20 дней [2]. Таким образом, у *M. vison* в процессе диапаузы создаются реальные условия для селекции бластоцист на жизнеспособность.

Как отмечалось выше, эмбриональная диапауза у млекопитающих характеризуется остановкой развития бластоцист на поздней стадии, что порой очень существенно отодвигает сроки наступления процесса имплантации [1, 6]. Облигатная эмбриональная диапауза имеет достаточно широкое распространение среди хищников. В частности, она обнаружена у представителей 16 видов, входящих в семейство кунных, а также у представителей еще шести семейств плотоядных [2, 6, 8].

Внешний контроль поддержания диапаузы. Некоторые факторы внешней среды выступают в качестве регуляторов, определяющих начало, продолжительность и окончание эмбриональной диапаузы у животных.

Так, у млекопитающих установлена роль температурного фактора в регуляции задержки эмбрионального развития (например у летучих мышей) [2]. Кроме того, показано, что понижение температуры индуцирует факультативную диапаузу у грызунов [9], а также продлевает облигатную диапаузу у некоторых плотоядных [2]. Напротив, у медведей окончание диапаузы и имплантация наблюдались в ответ на понижение температуры материнского организма [1]. Имеющиеся данные указывают, что у европейского барсука (*Meles meles*) «ухудшение питания» бластоцист приводит к удлинению эмбриональной диапаузы [1].

Социальный стресс, обусловленный переуплотнением группы животных или внедрением в нее новых самцов, также индуцировал факультативную диапаузу у грызунов [1]. У сумчатых уже само наличие сосунков, стимулировало вхождение в диапаузу и ее дальнейшее поддержание, а устранение из сумки молодняка быстро приводило к реактивации развития эмбриона и его имплантации [6].

Однако самым распространенным фактором внешней среды, контролирующим течение эмбриональной диапаузы у млекопитающих, является фотопериод [1, 2, 6]. Особенно убедительно доказана ключевая роль фотопериода в поддержании диапаузы у многих представителей кунных [1, 2].

Гипоталамо-гипофизарный путь поддержания диапаузы. Известно, что фотопериодический контроль продолжительности эмбриональной диапаузы, сроков возобновления развития бластоцист и их имплантации осуществляется у кунных опосредованно – через гипоталамо-гипофизарную систему [2, 8]. При этом определяется своевременность реализации физиологического сигнального пути, обеспечивающего оптимальную продолжительность ранней беременности самок. Именно своевременность, поскольку у слепых или содержащихся в темноте животных указанный путь реализуется, но при этом утрачивается его настройка на оптимальные для каждого сезона размножения сроки родов [8]. Таким образом, результатом указанного контроля является определение наиболее благоприятных сроков появления на свет потомства кунных [1, 2, 6].

Фотопериодический сигнал индуцирует нервный импульс в сетчатке глаза, передающийся по оптическим нервам в гипоталамус, откуда через высшие шейные ганглии (ВШГ) он достигает эпифиза [2, 8]. Удаление ВШГ у представителей кунных приводило к денервации эпифиза и нарушению фотопериодического регулирования диапаузы. Аналогичный результат был получен путем удаления эпифиза у американских норок с последующим введением им мелатонина [8].

В темноте у крыс отмечалась повышенная нейронная активность в постганглионарных волокнах ВШГ, следствием которой являлся рост ферментативной активности и уровня мелатонина в эпифизе [8]. У хорьков и норок ночью также наблюдался высокий уровень мелатонина [2, 8]. Инъекции мелатонина пролонгировали

задержку имплантации бластоцист у пятнистых скунсов и американских норок [8, 11]. При этом хроническая обработка мелатонином не препятствовала половому созреванию, овуляции или формированию бластоцист у норок [11]. Его введение норкам подавляло секрецию гипофизарного пролактина (ПРЛ) и снижало лютеальную активность, что приводило к задержке имплантации бластоцист [8, 11].

Установлено, что у представителей куньих мелатонин воздействовал на гипофиз, а его влияние на секрецию ПРЛ обуславливалось, по всей вероятности, посредством секреторного взаимодействия между гипофизом и гипоталамусом [12]. Обработка животных бромкрептином, агонистом допамина, подавляющим продукцию ПРЛ в гипофизе, существенно удлиняла диапаузу и отдаляла имплантацию [2].

Таким образом, в роли основного гормонального фактора, контролирующего продолжительность диапаузы, а также сроки возобновления развития и имплантации бластоцист у ряда представителей куньих, выступал гипофизарный пролактин. При этом подавление его секреции удлиняло эмбриональную диапаузу, а ее повышение способствовало реактивации развития бластоцист.

Выше уже отмечалось, что у оплодотворенных самок мышей и крыс имеет место факультативная диапауза, возникающая при грудном вскармливании потомства [1]. Она являлась следствием подавления у кормящих матерей овариальной продукции эстрогена, обусловленного действием гипофизарного ПРЛ.

Итак, сравнение данных о роли ПРЛ в контроле эмбриональной диапаузы куньих и мышевидных грызунов позволяют сделать вывод о том, что у этих групп млекопитающих указанная роль коренным образом различается.

Роль яичников и матки в поддержании состояния «покоя» бластоцист. Желтое тело (ЖТ) является единственным компонентом яичников американских норок, постоянно претерпевающим выраженные морфологические и физиологические изменения, совпадающие во времени с задержкой и последующим возобновлением эмбрионального развития, а также с имплантацией бластоцист [8]. У самок куньих задержка раннего эмбриогенеза сопровождается уменьшением объема ЖТ [2]. При этом развитие фолликулов продолжается, а овуляция может происходить через 6–7-дневные интервалы. Клетки ЖТ в течение эмбриональной диапаузы норок, хотя и деградируют, но способны синтезировать и секретировать прогестерон (ПГ), то есть сохраняют состояние лютеинизации [13]. Отмечаемый у самок норок на протяжении диапаузы базовый уровень ПГ необходим им, в первую очередь, для поддержания жизнеспособности «покоящихся» бластоцист [8, 13].

Эксперименты по реципрокным пересадкам показали, что бластоцисты хорьков (вида, не имеющего облигатной эмбриональной диапаузы), перенесенные в матку норки, находящуюся на стадии диапаузы, останавливались в своем развитии; в то же время «покоящиеся» бластоцисты норок активизировались в матке хорька [14]. При совместном культивировании *in vitro* выяснилось, что активное или «покоящееся» состояние бластоцист норок напрямую определялось происхождением культуры клеток матки: клетки, взятые из матки в состоянии диапаузы, тормозили развитие бластоцист, а клетки, взятые из активной матки, реинициировали их развитие [15].

Таким образом, установлено, что состояние бластоцист млекопитающих определяется состоянием среды в матке. Считается, что задержка имплантации обусловлена отсутствием необходимых стимулирующих факторов продуцируемых маткой, инициирующих возобновление эмбрионального развития [1]. В пользу этого свидетельствует также значительный рост синтеза и секреции белка в матке, совпадающий с завершением у самок диапаузы [1, 2, 8]. Представленные данные позволили сделать вывод о материнском контроле поддержания эмбриональной диапаузы у млекопитающих.

Литература

1. *Lopes F.L. , Desmarais J., Murphy B.D.* Embryonic diapause and its regulation // *Reproduction*. – 2004. – Vol. 128, № 6. – P. 669 – 678.
2. *Mead R.A.* Embryonic diapause in vertebrates // *J. Exper. Zool.* – 1993. – Vol. 266, № 4. – P. 629 – 641.
3. *Bowman P., McLaren A.* Cleavage rate of mouse embryos in vivo and in vitro // *J. Embryol. Exp. Morphol.* – 1970. – Vol. 24, № 2. – P. 203 – 207.
4. *Rider V.A. et al.* Passive immunization against progesterone inhibits endometrial sensitization in pseudopregnant mice and has antifertility effects in pregnant mice which are reversible by steroid treatment // *J. Endocrinol.* – 1985. – Vol.104. – P. 153 – 158.
5. *Weitlauf H.M.* Changes in the rate of transcriptions with reactivation of delayed implanting mouse embryos// *J. Exp. Zool.* – 1985. – Vol.236. – P. 309 – 312.
6. *Reese J. et al.* Coordinated regulation of fetal and maternal prostaglandins directs successful birth and postnatal adaptation in the mouse // *PNAS*. – 2000. – Vol. 97, № 17. – P. 9759 – 9764.
7. *Enders R. K.* Reproduction in the mink (*Mustela vison*) // *Proc. Am. Philos. Soc.* – 1952. – Vol. 96, № 2. – P. 691 – 755.
8. *Mead R.A.* The physiology and evolution of delayed implantation in carnivores // In book: *Carnivore behavior, ecology and evolution*. Ithaca, NY: Cornell University Press. – 1989. – P. 437– 464.
9. *Leung D.W. et al* Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen // *Science*. – 1989. – Vol. 246, № 4936. – P. 1306 – 1309.
10. *Bonnefond C., Martient L., Monnerie R.* Effects of timed melatonin infusions and lesions of the superchiasmatic nuclei on prolactin and progesterone secretion in pregnant and pseudopregnant mink // *Journal of Neuroendocrinology*. – 1990. – Vol. 2, № 3. – P. 583 – 591.
11. *Murphy B.D. et al.* Interactions between melatonin and prolactin during gestation in mink (*Mustela vison*) // *J. Reprod. Fertil.* – 1990. – Vol. 89, № 3. – P. 423 – 429.
12. *Rozell M.D., Mead R.A.* Effect of melatonin on pituitary secretion of prolactin in vitro during delayed implantation and the periimplantation period in the Spotted skunk // *J. Exper. Zool.* – 1993. – Vol. 267, № 3. – P. 524 – 532.
13. *Murphy B.D. et al.* Control of luteal function in the mink (*Mustela vison*) // *J. Reprod. Fertil.* – 1993. – (Suppl.) 47. – P. 181 – 188.
14. *Chang M.C.* Reciprocal insemination and egg transfer between ferrets and mink / M.C. Chang // *J. Exp. Zool.* – 1968. – Vol. 168, № 1. – P. 49 – 60.
15. *Moreau G.M. et al.* Development of immortalized endometrial epithelial and stromal cell lines from the mink (*Mustela vison*) uterus and their effects on the survival in vitro of mink blastocysts in obligate diapause // *Biol. Reprod.* – 1995. – Vol. 53, № 3. – P. 511 – 518.

Резюме

Представлены данные о биологическом значении, широте распространения, механизмах контроля и формах эмбриональной диапаузы у млекопитающих.

Представлено дані про біологічне значення, широту поширення, механізми контролю та форми ембріональної діапаузи у ссавців.

Data about biological significance, expansion, mechanisms of the control and forms of the embryonal diapause in mammals are presented.