

*В. А. Евстафьева, М. В. Кривоносова*

## **РОЛЬ РЕСНИЧЕК КЛЕТОК ВЕНТРАЛЬНОГО УЗЕЛКА В ДЕТЕРМИНАЦИИ ЛЕВО-ПРАВСТОРОННЕЙ АСИММЕТРИИ**

*Научный руководитель канд. мед. наук, доц. Т. И. Островская*

*Кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии,*

*Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск*

*V. A. Evstafieva, M. V. Kryvanosova*

## **THE ROLE OF NODAL CILIA IN DETERMINATION OF LEFT-RIGHT ASYMMETRY**

*Tutor assistant professor T. I. Ostrovskaya*

*Department of Histology, Cytology and Embryology,*

*Belarusian State Medical University, Minsk*

**Резюме.** В статье представлен механизм установления лево-правосторонней асимметрии в раннем эмбриогенезе млекопитающих, гипотезы влияния нодального тока жидкости в вентральном узелке на ассиметричный морфогенез.

**Ключевые слова:** реснички вентрального узелка, вентральный узелок, лево-правосторонняя асимметрия, первичные реснички, нодальный ток.

**Resume.** This article presents mechanism for establishment of left-right asymmetry in early mammalian embryogenesis, hypotheses of influence of nodal flow on asymmetric morphogenesis.

**Keywords:** nodal cilia, ventral node, left-right asymmetry, primary cilia, nodal flow.

**Актуальность.** Изучение механизмов установления лево-правосторонней асимметрии имеет большое клиническое значение, так как нарушения данного процесса могут приводить к различным заболеваниям. Однако единого объяснения, каким образом в детерминации участвуют реснички, нет. По этой причине было проведено сравнение различных концепций установления лево-правосторонней асимметрии и обобщение данных различных исследований.

**Цель:** изучить формирование лево-правосторонней висцеральной асимметрии в раннем эмбриогенезе млекопитающих.

### **Задачи:**

1. Выяснить роль ресничек в формировании градиента концентрации различных морфогенов в левой половине тела зародыша;
2. Установить роль различных генов в инициации ассиметричного морфогенеза;
3. Сравнить гипотезы влияния левонаправленного тока жидкости в вентральном узелке на экспрессию генов.

**Материал и методы.** Были изучены литературные источники с исследованиями на тему установления лево-правосторонней асимметрии.

**Результаты и их обсуждение.** Внешне позвоночные животные билатерально симметричны, но в строении их внутренних органов и систем органов (пищеварительной, сердечно-сосудистой) наблюдается лево-правосторонняя асимметрия. Помимо асимметрии внутренних органов (висцеральной) существует также функциональная (ассиметричное функционирование органов на левой и правой сторонах те-

ла) и поведенческая асимметрия. Вопрос о возможной связи между разными видами асимметрии до сих пор остается открытым.

Процесс установления асимметрии является многофакторным и крайне сложным, по этой причине нарушения детерминации лево-правосторонней асимметрии могут приводить к серьезным последствиям. Одно из таких нарушений происходит при синдроме Картагенера, редком наследственном заболевании, относящимся к группе цилиопатий. Одним из клинических симптомов данного синдрома является обратное расположение внутренностей (*situs inversus*).

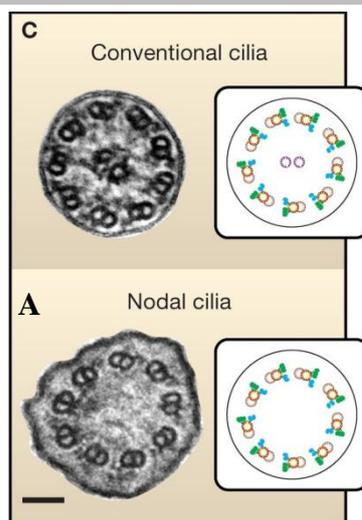
На основе изучения синдрома Картагенера, была предложена идея о том, что в развитии этой патологии большую роль играют реснички, так как другими проявлениями данного синдрома являются хронические бронхиты, риносинуситы, бесплодие, что указывает на нарушение структуры ресничек.

В дальнейшем эта теория нашла подтверждение при изучении эмбрионов мышей с мутациями генов, кодирующих белки суперсемейства KIF (*kinesin superfamily*). По микротрубочкам, расположенным в большинстве клеток транспортируются различные органеллы, белковые комплексы. KIFs также относятся к подобным белкам, в этом семействе выделяют KIF3A и KIF3B и ассоциированный с ними белок KAP3. Исследования мышей, рецессивных по генам, отвечающим за экспрессию белков *kif3a* и *kif3b*, показали, что у подобных животных наблюдается обратное расположение внутренних органов, тогда как контрольная группа диких мышей была нормальной по этому признаку. Таким образом, была показана связь нарушенного строения ресничек и нарушения процесса установления лево-правосторонней асимметрии [3].

Экспрессия одного из асимметричных генов (*lefty-2*) у эмбрионов диких мышей наблюдалась исключительно на левой стороне, а у мутантных мышей - с обеих сторон, либо вообще отсутствовала. Это указывает на то, что детерминация лево-правосторонней асимметрии происходит раньше, чем экспрессия *lefty-2*. Такая асимметрия обнаруживается также в асимметричной экспрессии таких генов, как *Lefty-1* (*Leftb*), *Nodal* и *Ptx2*.

После потери билатеральной симметрии начинается экспрессия каскада генов *Nodal-Ptx2* [6]. В норме ген *Nodal* экспрессируется только с левой стороны. В свою очередь он активирует экспрессию генов *Lefty-2* и *Ptx2*. Экспрессия данных генов начинается на стадии формирования 2-3 сомитов и прекращается на стадии 6-7 сомитов.

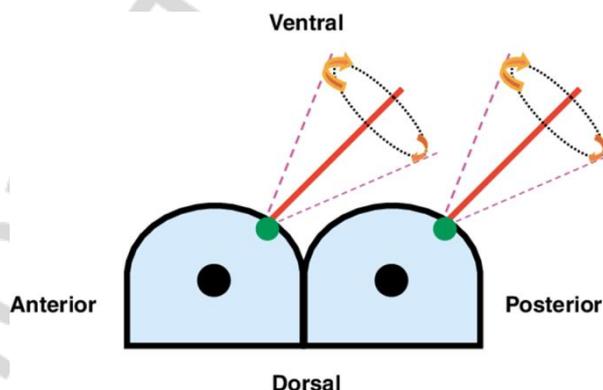
Главную роль в возникновении асимметричной экспрессии генов играют реснички клеток вентрального узелка. Вентральный узелок - это впячивание на вентральной поверхности эмбриона (на дорсальной поверхности - это выпячивание - первичный узелок). Они, в отличие от обычных ресничек, не имеют центрального дуплета микротрубочек в аксонеме (рис. 1).



**Рис. 1** - Схемы ресничек двух типов  
(С изображены обычные реснички, А - реснички вентрального узелка)

Первоначально предполагалось, что они являются неподвижными, однако в дальнейшем было установлено, что данные реснички могут двигаться, но их движения отличаются от тех, что совершают обычные реснички [1].

Реснички вентрального узелка совершают ротационные движения по часовой стрелке. Их ось наклонена кзади на  $40 \pm 10^\circ$  (рис. 2). Соответственно, правонаправленный поворот они совершают ближе к поверхности клетки, а левонаправленный - дальше от клетки. Это связано с тем, что правонаправленный ток является менее эффективным из-за сопротивления сдвигу. Сопротивление сдвигу настолько велико, что позволяет генерировать только левонаправленный ток. Создаваемый ресничками вентрального узелка левонаправленный ток называют нодальным током [2].



**Рис. 2** – Схематичное представление клеток вентрального узелка и движений их ресничек

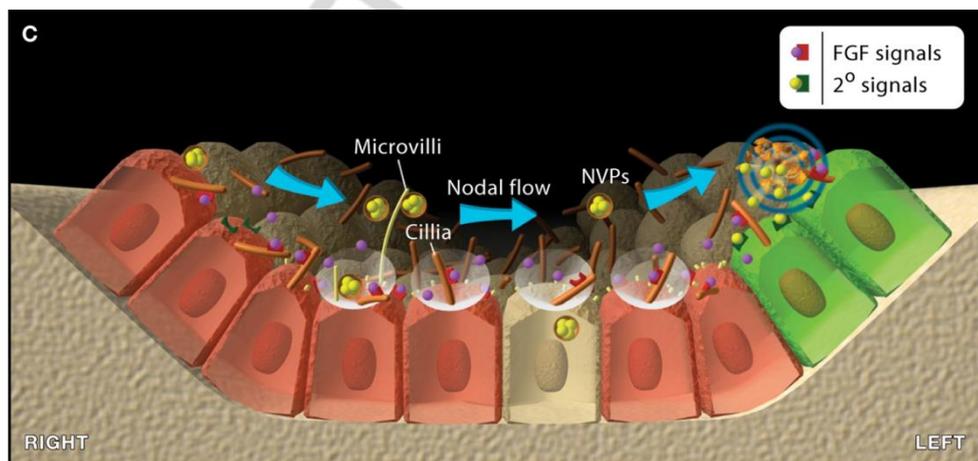
Однако до сих пор остается открытым вопрос, как же нодальный ток вызывает асимметричную экспрессию генов в полости вентрального узелка. Существует несколько гипотез, позволяющих частично объяснить, каким образом происходит определение левой стороны эмбриона с помощью нодального тока.

“Гипотеза двух типов ресничек” или биомеханическая гипотеза гласит, что реснички в области вентрального узелка работают не только как генераторы механического сигнала (порождая левонаправленный ток жидкости), но и как его рецепторы, запуская затем процесс повышения концентрации ионов кальция в клетках ле-

вой стороны тела. Повышение концентрации ионов внутриклеточного кальция активирует процессы, которые приводят в конечном итоге к активации экспрессии генов “левосторонности”. Часть ресничек в области вентрального узелка способна к биению, а другая часть неподвижна. Авторы данной гипотезы считают, что эти неподвижные реснички работают как механосенсоры. Для нормального развития лево-правосторонней асимметрии важна не только способность ресничек производить левонаправленный ток жидкости в области вентрального узелка, но и их механочувствительная способность [5].

Согласно гипотезе переноса морфогена, благодаря создаваемому биением ресничек левостороннему току жидкости, в левой части полости вентрального узелка увеличивается концентрация некой важной сигнальной молекулы или молекул, которые и вызывают экспрессию генов “левосторонности” в левой части тела эмбриона.

Кроме этого, существует гипотеза переноса везикул с морфогеном (“челночная модель”). Было обнаружено, что в образовании концентрационных градиентов участвуют нодальные везикулярные частицы (NVP), схожие по составу с липопротеинами. Эти частицы не циркулируют по полости узелка очень долго. Сначала они появляются (примерно за 10 секунд), затем с помощью нодального тока транспортируются на левую сторону (это занимает еще 10 секунд), а затем поглощаются клетками левой стороны (в течение 10 секунд). Разрыв этих частиц связывают с подъемом концентрации  $Ca^{2+}$  в клетках левой стороны. Возможно, он транспортируется вместе с NVP, либо с помощью NVP происходит передача сигналов инициирующих высвобождение  $Ca^{2+}$ . Левонаправленный ток NVP в вентральном узелке может являться инициальным механизмом детерминации лево-правосторонней асимметрии у эмбрионов мышей. Однако у некоторых других животных он не так очевиден.



**Рис. 3** - Перенос нодальных везикулярных частиц в полости вентрального узелка и их захват клетками на периферии узелка

Представляется более возможным, что в детерминации лево-правосторонней асимметрии играют роль все эти механизмы. В последнее время наиболее актуальной стала биомеханическая гипотеза. Одним из сильных аргументов в пользу гипотезы двух ресничек стало открытие того факта, что для правильного установления лево-правосторонней асимметрии достаточно чтобы двигались всего лишь две реснички [4], что затрудняет реализацию переноса морфогена, так как для перемещения

сигнальных молекул требовался бы более сильный левонаправленный ток. Гипотеза переноса морфогена также уступает биомеханической гипотезе тем, что так и не было установлено, какой именно морфоген переносится на начальном этапе, индуцируя экспрессию асимметричных генов.

**Выводы:** решающее значение в происхождении асимметрии млекопитающих играют реснички вентрального узелка. Их ротационные движения порождают левонаправленный ток жидкости, который называется нодальным током. В свою очередь, нодальный ток жидкости создает градиент концентраций сигнальных молекул, запускающих экспрессию специфических генов (Nodal, Lefty-1, Lefty-2, Ptx2) в левой части эмбриона, инициирующих асимметричный морфогенез.

Существуют различные гипотезы того, как левонаправленный ток вызывает асимметричную экспрессию генов. Среди них наиболее приемлемой является “гипотеза двух ресничек”. Однако точные механизмы данного процесса так и не были установлены, что показывает потребность в дальнейших исследованиях на данную тему.

#### Литература

1. Davenport J.R., Yoder B.K. An incredible decade for the primary cilium: A look at a once-forgotten organelle [Текст] / Davenport J.R., Yoder B.K. // American Journal of Physiology - Renal Physiology. -2005. - № 6 58-6 (289). - С. 1159–1169.
2. Nodal Flow and the Generation of Left-Right Asymmetry [Текст] / Hirokawa N. и др. // Cell. - 2006. - № 1 (125). - С. 33–45.
3. Randomization of left-right asymmetry due to loss of nodal cilia generating leftward flow of extraembryonic fluid in mice lacking KIF3B motor protein [Текст]/Nonaka S. и др.// Cell. - 1998. - № 6 (95). - С. 829–837.
4. Two rotating cilia in the node cavity are sufficient to break left-right symmetry in the mouse embryo [Текст] /Shinohara K. и др. // Nature Communications. - 2012(3).
5. Tabin C.J., Vogon K.J. A two-cilia model for vertebrate left-right axis specification [Текст] / Tabin C.J., Vogon K.J. // Genes and Development. -2003. - № 1 (17). - С. 1–6.
6. Ермаков А. С. Установление Лево-Правой Висцеральной Асимметрии У Млекопитающих: Роль Биения Ресничек И Левостороннего Тока Жидкости В Области Гензеновского Узелка [Текст]/ Ермаков А.С. // Онтогенез. - 2013. - № 5 (44). - С. 341–356.