

# ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1

## ΒΑΣΙΚΕΣ ΕΝΝΟΙΕΣ

Οι περισσότεροι ζωικοί οργανισμοί αρχίζουν τη ζωή τους από το **ζυγωτό** (zygote) το οποίο σχηματίζεται από την ένωση ενός ωαρίου με ένα σπερματοζωάριο. Ο κλάδος της **Αναπτυξιακής Βιολογίας** (Developmental Biology) που μελετά την εξέλιξη ενός οργανισμού από το ζυγωτό μέχρι τον σχηματισμό ενός ατόμου που δύναται να κινείται ελεύθερα και να διατρέφεται ενεργητικά από το περιβάλλον χωρίς να εξαρτάται από εφεδρικά τροφικά συστατικά (π.χ. κρόκος αβγού στα πτηνά), ή από τη μητέρα (π.χ. ομφάλιος λώρος στα θηλαστικά) καλείται **Εμβρυολογία** (Embryology). Ο οργανισμός κατ αυτό το χρονικό διάστημα καλείται **έμβρυο** (embryo). Ειδικότερα, έμβρυο χαρακτηρίζεται ο οργανισμός από τη στιγμή της γονιμοποίησης του αβγού μέχρι το πέρας της ιστογένεσης. Για τα θηλαστικά, στα οποία η εξέλιξη του οργανισμού γίνεται μέσα στη μητέρα, διακρίνουμε τρία στάδια ανάπτυξης:

- α) Προέμβρυο:** από το ζυγωτό έως την περίοδο που ο αναπτυσσόμενος οργανισμός (βλαστοκύστη) εμφυτεύεται στο μυομήτριο.
- β) Έμβρυο:** από την εμφύτευση στο μυομήτριο μέχρι την απόκτηση μορφολογίας του ενήλικου (περίπου) ατόμου.

**γ) Εγκύημα** (fetus): από την περίοδο εμφάνισης της μορφής του ενηλίκου μέχρι τη γέννηση.

Η έννοια του ζυγωτού πρέπει να τροποποιηθεί ώστε να περιλαμβάνει και την ανάπτυξη οργανισμών, των οποίων η εξέλιξη αρχίζει από ένα μη γονιμοποιημένο ωάριο. Έτσι, τον όρο "Ζυγωτό" τον αντικαθιστούμε από τον όρο **ενεργοποιημένο ωάριο** (activated egg). Η δημιουργία οργανισμού από μη γονιμοποιημένο ωάριο καλείται **παρθενογένεση** (parthenogenesis). Στις περισσότερες όμως περιπτώσεις η εμβρυϊκή ανάπτυξη ενός οργανισμού ξεκινά από το ζυγωτό.

## Καθορισμός γεννητικών κυττάρων

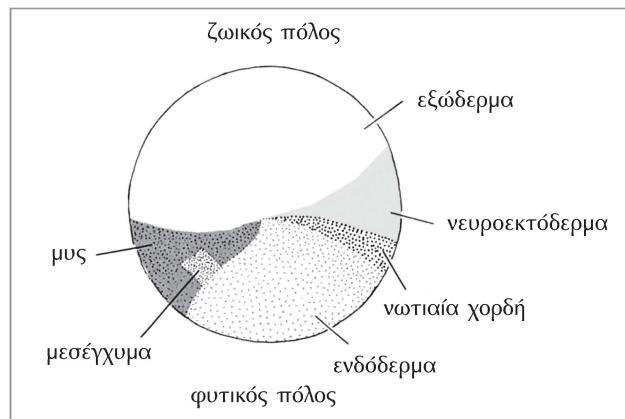
Η εμβρυϊκή ανάπτυξη των περισσότερων οργανισμών αρχίζει με την ένωση ωαρίου και σπερματοζωαρίου. Η πλήρης όμως κατανόηση των αναπτυξιακών φαινομένων που ακολουθούν αυτή την ένωση προϋποθέτει και λειτουργική γνώση ορισμένων χαρακτηριστικών διαδικασιών που προηγούνται της γονιμοποίησης και της εμβρυϊκής ανάπτυξης, όπως είναι η σπερματογένεση και η ωογένεση.

Κατά τα πρώτα στάδια της εμβρυϊκής ανάπτυξης των περισσότερων ζώων ορισμένα κύτταρα εφοδιάζονται με ειδικές πληροφορίες. Έτσι προσδιορίζεται η μελλοντική εξέλιξή τους και καθίστανται **αρχέγο-**

**να ή πρωταρχικά γεννητικά κύτταρα** (primordial germ cells). Αυτά μεταναστεύουν στις κατάλληλες θέσεις στον αναπτυσσόμενο οργανισμό (π.χ. όρχεις στό αρσενικό, ωθήκες στο θηλυκό άτομο), όπου (κατά την περίοδο της γεννητικής ωρίμανσης κάθε οργανισμού) ύστερα από σειρά μιτωτικών διαιρέσεων υφίστανται την τελική μειωτική διαιρέση και μετατρέπονται σε ώριμους γαμέτες. Δεν είναι ακόμη πλήρως γνωστή η φύση των παραγόντων που είναι υπεύθυνοι για τον **καθορισμό** (determination) της τύχης των αρχέγονων γεννητικών κυττάρων. Πιστεύεται ότι σε κάποια φάση της αυλάκωσης, κάποιο ή κάποια βλαστομερίδια εγκλείσουν μέσα τους την απαραίτητη ποσότητα του ειδικού καθοριστικού μορίου (**κυτταροπλασματικός καθοριστής**, cytoplasmic determinant), το οποίο ενεργοποιεί μηχανισμούς διαφοροποίησης προς την κατεύθυνση του γεννητικού πλάσματος. Πράγματι, στο οπίσθιο τμήμα του αβγού της Δροσόφιλας έχει ανιχνευθεί υλικό πλούσιο σε RNA, το **πολικό πλάσμα** (polar plasm), το οποίο αν εγκλεισθεί σε οποιαδήποτε κύτταρα του εμβρύου τα προγραμματίζει ώστε να γίνουν αρχέγονα γεννητικά κύτταρα (**Εικόνα 1**).

Τέτοιες ουσίες έχουν ανιχνευθεί στα ωάρια και άλλων οργανισμών (π.χ. αμφίβια). Σε αρκετές περιπτώσεις (π.χ. χιτωνόζωο *Styela*) οι ουσίες αυτές είναι έγχρωμες (λόγω παρουσίας χρωμοφόρων ομάδων) και η κατανομή τους στο ωάριο είναι ορατή. Έτσι διαπιστώνεται αμέσως ότι δεν είναι ομοιομερώς κατανεμημένες σε όλη τη μάζα του ωαρίου, γεγονός που δείχνει ότι τα ωάρια διαθέτουν εξ αρχής δομική ασυμμετρία (**Εικόνα 2**).

Η κατανομή των κυτταροπλασματικών καθοριστών γίνεται σε διάφορα στάδια για τους διάφορους οργανισμούς. Στα αμφίβια και στη Δροσόφιλα γίνεται κατά την ωγένεση. Στα ασκίδια γίνεται μετά τη γονιμοποίηση. Στα κτενοφόρα γίνεται κατά την αυλάκωση. Στα ωοκύτταρα της Δροσόφιλας και του *Xenopus* έχουν ανιχνευθεί περίπου 20 κυτταροπλασματικοί καθοριστές. Οι καθοριστές αυτοί είναι συνήθως μητρικής προέλευσης μόρια mRNA.

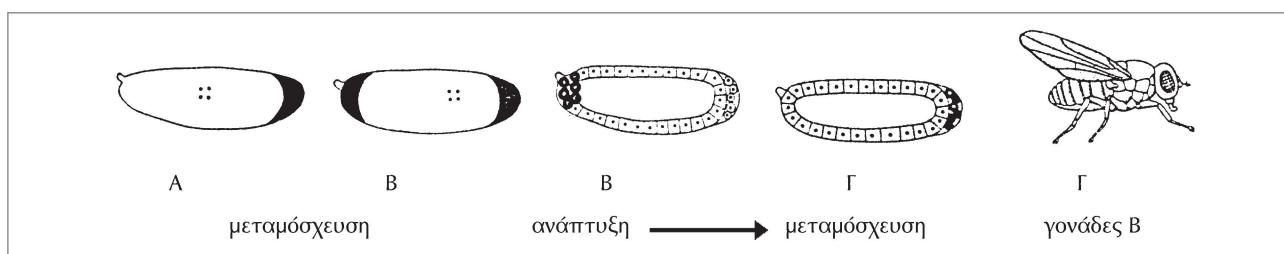


ΕΙΚΟΝΑ 2

Αμέσως μετά τη γονιμοποίηση στο χιτωνόζωο (υποφύλο των Χορδωτών) *Styela tunicata* έγχρωμοι μορφογενετικοί καθοριστές κατανέμονται σε ορισμένες περιοχές του εμβρύου και επάγουν τις δομές που αναγράφονται.

### Τα ωάρια είναι τα γεννητικά κύτταρα του θηλυκού ατόμου

Τα ωάρια (των θηλαστικών) πρωτοπαρατίρησε το 1827 ο Ρώσσος εμβρυολόγος (και "πατέρας" της εμβρυολογίας) Karl Ernst von Baer (1792-1876) καθώς αυτά ωρίμαζαν μέσα στις ωθήκες, όμως, την κυτταρική φύση τους διαπίστωσε το 1839 ο Theodor Schwann (κατ' άλλους, το 1861 ο Karl Gegenbauer). Συνήθως τα ωάρια όλων των οργανισμών είναι πολύ μεγαλύτερα από τα σωματικά κύτταρα του ενήλικου ατόμου (**Εικόνα 3**) διότι κατά τη φάση της ωρίμανσης τους αποθηκεύουν τεράστιες ποσότητες υλικών, όπως mRNA (το αβγό του αχινού περιέχει περίπου 11.000 διαφορετικά μόρια mRNA), tRNA, ριβοσώματα (πολλά αβγά περιέχουν περίπου  $10^{12}$  ριβοσώματα), πάρα πολλά μιτοχόνδρια (ενώ στα συνήθη σωματικά κύτταρα το μιτοχόνδριακό DNA είναι περίπου 100 φορές λιγότερο από το πυρηνικό, στα ωάρια το μιτοχόνδριακό DNA μπορεί να είναι ίσο ή και περισσότερο από το πυρηνικό) και άφθονα τροφικά συστατικά.

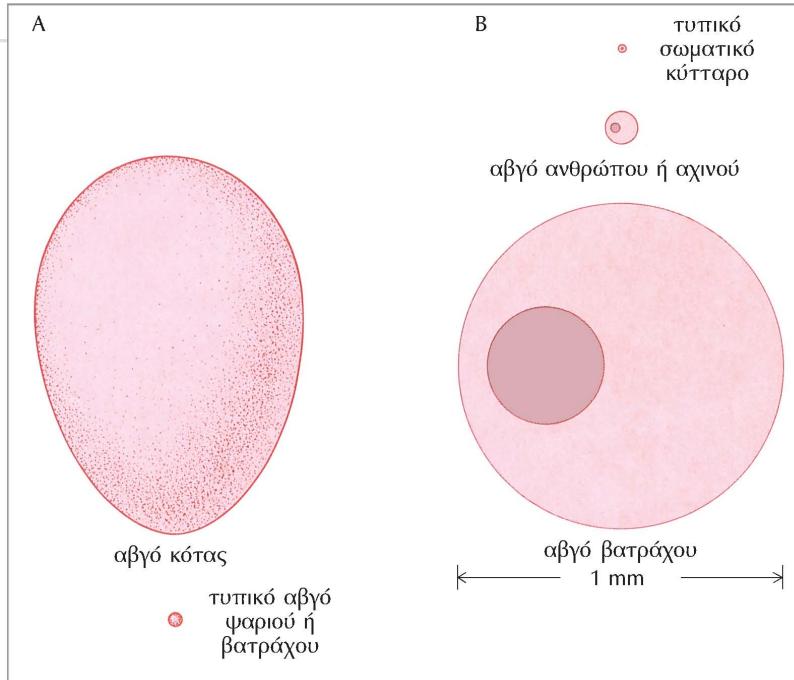


ΕΙΚΟΝΑ 1

Από το οπίσθιο μέρος αβγού Δροσόφιλας (Α), μεταφέρουμε πολικό πλάσμα (μαύρο) στο πρόσθιο μέρος εμβρύου Δροσόφιλας (Β). Τα "πρόσθια" κύτταρα αυτής της Δροσόφιλας εγκλείσουν μέσα τους πολικό πλάσμα. Αυτά τα κύτταρα μεταμοσχεύουμε στο οπίσθιο τμήμα Δροσόφιλας (Γ) και παρατηρούμε ότι γίνονται αρχέγονα γεννητικά κύτταρα.

## ΕΙΚΟΝΑ 3

A: Ωάριο όρνιθας και βατράχου σε (περίπου) φυσικό μέγεθος. B: Ωάρια ανθρώπου και βατράχου σε σύγκριση με ένα τυπικό σωματικό κύτταρο (μεγέθυνση περίπου 60 φορές). [Ο πρώτος που διαπίστωσε ότι τα μεγάλα αβγά των πουλιών αποτελούνται από ένα μόνο κύτταρο, ήταν ο Γερμανός ζωολόγος Karl Gegenbauer (1826-1903)].



Η σημασία του εμπλουτισμού με μεταβολικά προϊόντα είναι προφανής διότι, ύστερα από τη γονιμοποίηση του ωαρίου από το σπερματοζάριο αρχίζει ένας συνεχής κύκλος μιτωτικών διαιρέσεων (αυλακώσεων) από τις οποίες απουσιάζουν οι φάσεις G1 και G2, οπότε δεν συντίθεται RNA και πρωτεΐνες. **[Σημείωση:** Ορισμένες πρωτεΐνες συντίθενται από μετάφραση μητρικής προέλευσης mRNA]. Πράγματι, η **αυλάκωση** (cleavage) συνεχίζεται ακόμη και παρουσία ειδικών αναστολέων της σύνθεσης του RNA, όπως είναι η ακτινομυκίνη D (συνδέεται στο DNA και παρεμποδίζει τη μεταγραφή γονιδίων διακόπτωντας τη μετακίνηση της RNA-πολυμεράσης). Τα τροφικά συστατικά είναι απαραίτητα για την επιβίωση του αναπτυσσόμενου εμβρύου, διότι εξ ορισμού κατά την περίοδο της εμβρυϊκής ανάπτυξης ο οργανισμός δεν δύναται να τραφεί ενεργητικά από το περιβάλλον. Έτσι, ζώα με μεγάλο εμβρυϊκό διάστημα (κότα, βάτραχος) έχουν ωάρια με μεγάλη ποσότητα θρεπτικών συστατικών. Αντίθετα, σε ζώα των οποίων τα ωάρια είναι πιτωχά σε θρεπτικά συστατικά (αχινός), η ολοκλήρωση του εμβρύου είναι ταχεία.

Τα ωοκύτταρα του αχινού και του ανθρώπου έχουν διάμετρο 60-150μm, των αμφιβίων και των φαριών 1.000-2.000μm, ενώ σε πτηνά και ερπετά το μέγεθος φθάνει τα 30.000μm. Συνήθως, τόσο μεγάλα κύτταρα διαθέτουν ευμεγέθη πυρήνα. Στο ωάριο των αμφιβίων (το οποίο έχει δύκο 1.000 φορές μεγαλύτερο από το ωάριο του ανθρώπου) ο πυρήνας είναι περίπου 400μm. Τέτοιες διαστάσεις, τεράστιες σε σχέση με το μέγεθος των συνήθων σωματικών κυττάρων (πε-

ρίου 15μm) επιτρέπουν μικροχειρουργικές επεμβάσεις για τη μελέτη του ρόλου του πυρήνα και του κυτταροπλάσματος χωριστά στην επίδρασή τους στην αναπτυξιακή πορεία. Το σημαντικότερο τροφικό συστατικό είναι η **λέκιθος** (yolk). Αποτελείται από μήγμα πρωτεΐνων και λιπιδίων το οποίο ευρίσκεται υπό μορφή λεκιθικών κόκκων. Σε αβγά που αναπτύσσονται έχω από το σώμα και ανεξάρτητα από αυτό η λέκιθος συνιστά το 95% του όγκου του αβγού (π.χ. πτηνά). Στα θηλαστικά, στα οποία η εμβρυογένεση γίνεται με διατροφή του εμβρύου από τη μητέρα, το ποσοστό της λεκίθου μόλις φτάνει το 5% του συνολικού όγκου του αβγού. Η λέκιθος σχηματίζεται στο συκώτι του θηλυκού ατόμου υπό μορφή **λεκιθογενίνης**. Στα έντομα η λεκιθογενίνη συντίθεται στο λιπαρό σώμα και στην ωθήνη.

Τα ωάρια, ανάλογα με το ποσό της περιεχόμενης λεκίθου και την κατανομή της διακρίνονται σε:

- α) ισολεκιθικά** (isolecithal: αχινός, χιτωνόζωα, νηματώδεις σκώληκες, μη κεφαλόποδα μαλάκια, πλατυέλμινθες, λωριδοσκώληκες, δακτυλιοσκώληκες, πλακουντοφόρα θηλαστικά: μικρό ποσό λεκίθου με σχεδόν ομοιογενή κατανομή),
- β) ετερολεκιθικά** (heterolecithal: αμφίβια: μεγάλο ποσό λεκίθου με ανομοιογενή κατανομή),
- γ) τελολεκιθικά** (telolecithal: πτηνά, ιχθείς, κεφαλόποδα, ερπετά, μονοτρίματα: πολύ μεγάλο ποσό λεκίθου), και
- δ) κεντρολεκιθικά** (centrolecithal: έντομα: μεγάλο ποσό λεκίθου συγκεντρωμένο στο κέντρο του αβγού).

Η ποσότητα της λεκίθου επηρεάζει και τον τρόπο αυλάκωσης του αβγού. Έτσι, στα ισολεκιθικά αβγά παρατηρείται **ολική ίση** (holoblastic, equal) αυλάκωση, στα ετερολεκιθικά γίνεται **ολική, άνιση** (holoblastic, unequal) αυλάκωση, στα τελολεκιθικά η αυλάκωση χαρακτηρίζεται ως **μεροβλαστική, δισκοειδής** (meroblastic, discoideal), ενώ στα έντομα είναι **μεροβλαστική, επιφανειακή** (meroblastic, superficial, **Εικόνα 4**).

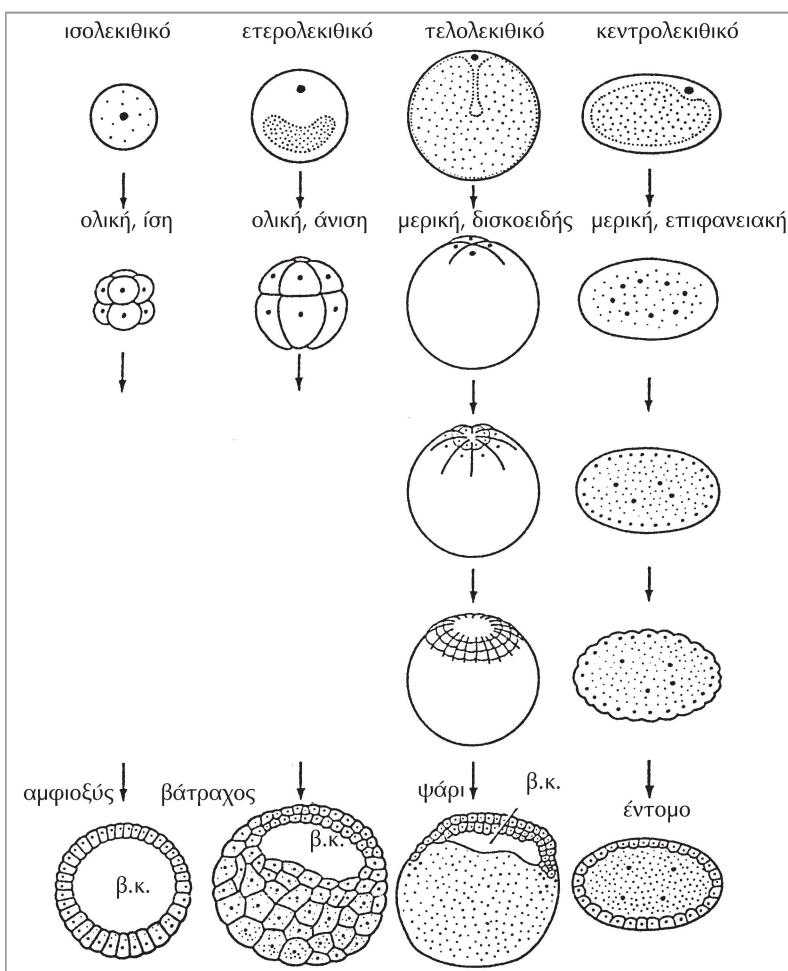
Στα πρωτοστόμια ζώα (δεν ρυθμίζουν) η αυλάκωση χαρακτηρίζεται ως **σπειροειδής** (spiral: δακτυλοσκώληκες, μαλάκια, ορισμένοι πλατυέλμινθες και λωριδοσκώληκες), ενώ στα δευτεροστόμια είναι **ακτινωτή** (radial, τα δευτεροστόμια ρυθμίζουν, βλέπε λεξιλόγιο, «ρύθμιση»). Σε ορισμένα ζώα (νηματώδεις, πλακουντοφόρα θηλαστικά) η αυλάκωση χαρακτηρίζεται ως **περιστροφική** (rotational). Κατ' αυτή, το πρώτο επίπεδο διαίρεσης είναι μεσημβρινό και χωρίζει το αβγό σε δύο βλαστομερίδια. Όμως, το δεύτερο επίπεδο διαίρεσης είναι για το ένα βλαστομερίδιο μεσημβρινό, ενώ για το άλλο γίνεται ισημερινό (λόγω περιστροφής της μιτωτικής ατράκτου, **Εικόνα 5**).

Στα πρώτα βλαστομερίδια του αχινού δεν παρ-

τηρείται G1 φάση. Στον *Xenopus* και στη Δροσόφιλα δεν υπάρχουν G1 και G2 φάσεις. Στον *Xenopus* οι φάσεις αυτές αρχίζουν μετά τον 12ο κυτταρικό κύκλο, ενώ στη Δροσόφιλα εισάγονται συνήθως μετά τον 14ο. [Σημείωση: Τέτοια στοιχεία αποκαλύπτουν την ύπαρξη ενός βιολογικού ωρολογίου, η μοριακή φύση του οποίου όμως ακόμη αγνοείται]. Η προσθήκη αυτών των φάσεων συνοδεύεται από αύξηση της κυτταρικής κινητικότητας και της σύνθεσης RNA. Οι παράγοντες που ελέγχουν την αυλάκωση ευρίσκονται στο κυτταρόπλασμα. Για παράδειγμα, αν μεταμοσχεύθουν πυρήνες νευρικών κυττάρων σε διαιρούμενα ωοκύτταρα, τότε αρχίζει και σε αυτούς σύνθεση DNA.

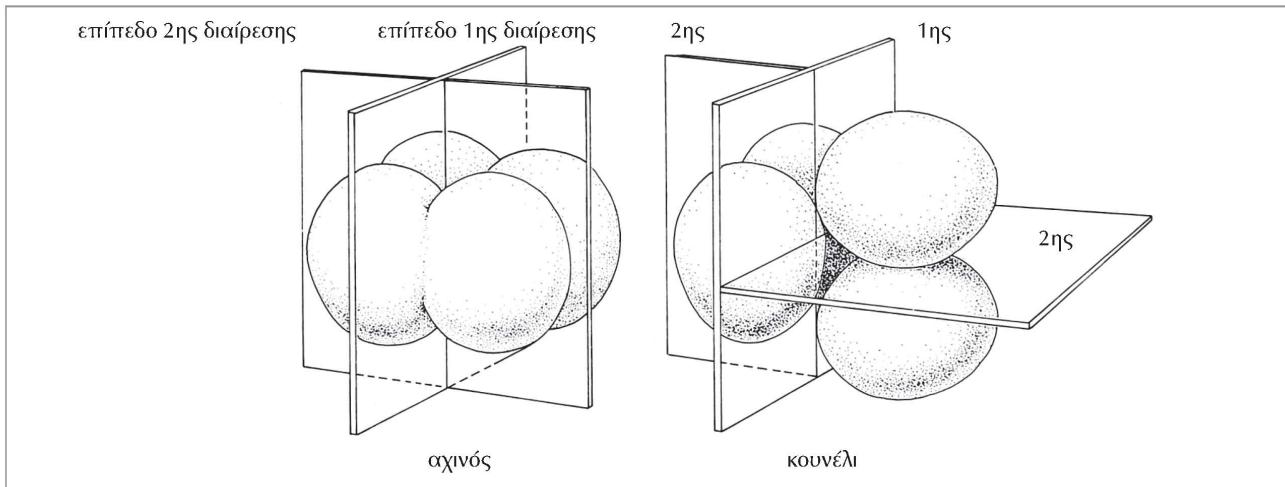
Στην αυλάκωση του αβγού των θηλαστικών παρατηρούνται τέσσερις σημαντικές διαφορές σε σχέση με την αυλάκωση του αβγού άλλων οργανισμών:

- a)** Η διάρκεια του κυτταρικού κύκλου είναι αρκετά μεγάλη (12-24 ώρες). [Για σύγκριση, αναφέρεται ότι ο κυτταρικός κύκλος της αυλάκωσης στα αμφίβια διαρκεί από 15-60min, ενώ στη Δροσόφιλα περίπου 15min].
- b)** Το πρώτο επίπεδο διαίρεσης είναι μεσημβρινό και



**ΕΙΚΟΝΑ 4**

Χαρακτηρισμός ωαρίων ανάλογα με το ποσό της λεκίθου και τον τρόπο αυλάκωσης. (β.κ.= βλαστική κοιλότητα).



ΕΙΚΟΝΑ 5

Σύγκριση των επιπέδων διαιρεσης μεταξύ ακτινωτής (αχινός) και περιστροφικής (κουνέλι) αυλάκωσης.

χωρίζει το αβγό σε δύο βλαστομερίδια. Το μεν ένα διαιρείται με μεσημβρινό, το δε άλλο με ισημερινό επίπεδο.

- γ)** Η διαιρεση των βλαστομερίδιων είναι ασύγχρονη.  
**δ)** Από το στάδιο των οκτώ κυττάρων, τα κύτταρα συνδέονται πολύ ισχυρά μεταξύ τους και το έμβρυο γίνεται μια συμπαγής μάζα (**compaction, συνένωση, Εικόνα 6**).

Τα ωάρια των ζώων περιβάλλονται από ακυτταρικά στρώματα γλυκοπρωτεΐνων και βλεννοπολυσακχαριτών, που εκκρίνονται είτε: (i) από το ίδιο το ωάριο (**πρωτογενή περιβλήματα**: χόριο αβγού φαριών, ζελατινώδες περιβλήμα αβγού εχινοδέρμων, βιτελλινή μεμβράνη αμφιβίων, διαφώτιστη ζώνη θηλαστικών), (ii) από συνοδά κύτταρα (**δευτερογενή περιβλήματα**: βιτελλινή μεμβράνη και χόριο αβγού εντόμων), (iii) από τον ωαγωγό (**τριτογενή περιβλήματα**: ζελατινώδες περιβλήμα αμφιβίων, αλβουμίνη, κέλυφος αβγού ερπετών και πτηνών). Στα θηλαστικά, το περιβλήμα το οποίο ευρίσκεται ακριβώς επάνω από

την κυτταρική (πλασματική) μεμβράνη, καλείται **διαφώτιστη ζώνη** (zona pellucida). Η διαφώτιστη ζώνη των θηλαστικών αποτελείται κυρίως από τρεις γλυκοπρωτεΐνες, τις ZP1, ZP2 και ZP3. Η ZP3 έχει ικανότητα σύνδεσης με σπερματοζωάρια. Το ωάριο των θηλαστικών περιβάλλεται έξω από τη διαφώτιστη ζώνη από ένα στρώμα κυττάρων, την **ακτινωτή στεφάνη** (corona radiata). Στα άλλα σπονδυλόζωα και σε πολλά ασπόνδυλα το αντίστοιχο στρώμα καλείται **βιτελλινή μεμβράνη** (vitelline membrane). Αυτό το στρώμα παρέχει προστασία από μηχανικές κακώσεις και περιέχει ειδικούς υποδοχείς [της **συνδετίνης**=bindin] για την αναγνώριση και σύνδεση του σπέρματος του είδους. Στα έντομα, ειδικά κύτταρα τα οποία περιβάλλουν το ωάριο εκκρίνουν ένα παχύ, σκληρό περιβλήμα, το **χόριο**.

Όπως αναφέρεται παραπάνω, ορισμένα ωάρια κατά τη διαδρομή τους μέσα στον ωαγωγό περιβάλλονται (έξω από την πλασματική τους μεμβράνη) από ένα στρώμα που παράγεται από επιθηλιακά κύτταρα του ωαγωγού. Έτσι, στα αμφίβια δημιουργείται το

ΕΙΚΟΝΑ 6

Ηλεκτρονιογραφία σάρωσης σε έμβρυο ποντικού στο στάδιο των 8 κυττάρων πριν (A) και μετά (B) τη συνένωση.

