

Arengubioloogia saamislugu

Embrüoloogiast arengu sünteesiteooriani

Kreeka keeles tähendab εμβρυον=*embryon* sees kasvav või kestade sees olev. Esialgu di **embrüoloogia** teadus, mis uuris loomade arenemist munaraku viljastumisest kuni loote- või munakestadest vabanemiseni. Ajapikku embrüoloogia uurimispiirid laienesid, kuna embrüonaalset arenemist ei olnud võimalik mõista ilma eelneva ja järgneva perioodi tundmiseta. Niiviisi lülitus embrüoloogia vaatevälja tingimata ka pro-embrüogenees ehk gametogenees ja postembrüonaalne arenemine koos kasvamise, regeneratsiooni, metamorfoosi ja perioodilise morfogeneesi probleemidega. Käesoleva sajandi esimesel poolel arenes embrüoloogia lahus nii geneetikast kui ka evolutsiooniõpetusest ja koondas peatähelepanu eksperimentaalsele suunale. 1960. aastatest edasi haaras embrüoloogia endasse üha rohkem biokeemia, raku-bioloogia, molekulaarbioloogia, geneetika ja immunoloogia saavutusi ning uurimismeetodeid. Selle tulemusena arenes välja uus suund – **arengubioloogia**.

Arengubioloogia probleemide ring võib tunduda vägagi lai, seda enam, et tihti piiritletakse naljatamisi arengubioloogiaks seda, mis huvitab arengubiolooge. Tegelikuses on olnud arengubioloogia tuumaks embrüoloogia kolm põhiprobleemi, mida iseloomustab uuritavate protsesside pöördumatus:

- diferentseerumine,
- morfogenees,
- kasvamine.

1990. aastatel on arengubioloogia üha rohkem lähenenud evolutsiooni-teooriale. Ameerika arengubioloogi Scott F. Gilberti hinnangul on sajandivahetuseks kujunemas uus kompleksne distsipliin – **arengu sünteesiteooria** (*developmental synthesis*). Sellisel juhul lisandub uurimis-suunana veel üks pöördumatu protsess – fülogenees.

Preformism või epigenees – arengubioloogia dilemma läbi aegade

Antiik-Kreekast Harveyni

Inimest on alati huvitanud nii loomade kui ka inimese enda saamis-lugu. Sõna *embrüo* tuleneb kreeka keelest ja ka vanimad säilinud arusaamad isendiloost pärinevad Antiik-Kreekast. Kogu selle pika ajaloo vältel on embrüoloogia ja hilisema arengubioloogia käsitluses märgata kahe vastandliku koolkonna ideelist võitlust ja seda mingil määral kuni tänaseni välja. Tegemist on põhimõttelise vaidlusega ühelt poolt preformismi ja teiselt poolt epigeneesi pooldajate vahel. Preformismiõpetus eitab ontogeneesis organismi arenemist ja selle asemel näeb vaid kasvamist. Kõik organid olevat sugurakus vähendatud kujul olemas ja täiskasvanud organismini jõutakse mõõtmete suurenemisega. Vastupidi preformismile on epigeneesi pooldajad absolutiseerinud organismi arenemise vormitust massist.

Antiik-Kreekast on juba V sajandist e.m.a teada preformistliku vaade isara **Hippokrates** (400–377 e.m.a.). Tema õpetuse järgi kujunevad kõik organismi osad üheaegselt ja seejärel lahknevad mingisuguse sisenemise tule mõjul. Pärast loomishetke ei muutuvat midagi. Tõsi, tema pärandist on veel välja loetud, et organismi suuremad osad tekivad enne kui väiksemad, mida võiks ju pidada arenemise turnustamiseks. Antiikaja naturfilosoof **Aristoteles** (384–322) on kindlalt epigeneesi pooldaja. Õpetus vormi kujunemisest oli üldse aluseks kogu tema dualistlikule maailmavaatele aktiivsest kujundajast ja mitteaktiivsest materias. Aristotelese käsitluses oli arenemises vormituks materiasiks ema menstruatsiooniveri ja isalt aktiivse vormimoodustajana seemnevedelik.

Aristoteles süstematiseeris paljunemise vormid looduses järgmiselt:

- isetärgamine (kärbeste, kirpude ja usside teke roiskavas materjalis),
- pungumine,
- hermafroditne paljunemine (mesilased ja kalad),
- suguline paljunemine (inimene ja enamik loomi).

Aristotelese seisukohad püsisid koolitarkuses kuni 18. sajandini. Embrüoloogiast kui teadusest saab üldse uuesti rääkida alles renessansiajastul. Esimese arvestatava uurijana sellest ajastust tuleb märkida kindlasti inglise arsti William **Harvey**'d (1578–1657), kes füsioloogiast on tuntud kui inimese vereringe avastaja. Arengubioloogia seisukohalt

oli oluline Harvey arusaam, et kõigi loomade arenemine algab munast. Temalt pärineb kuuluis sentents "*Ex ovo omnia*" või täpsem on "*Omne vivum ex ovo*". On tähelepanuväärne, et sellise üldistuseni jõudis Harvey aasta enne Regnier de Graaf'i tööd ovariaalfolliikulitest ja kaks sajandit enne Karl Ernst von Baeri kirjeldatud imetaja munarakku.

Mikroskoopia preformismi teenistuses

17. sajand oli eksperimentaalteaduste sünnisajandiks, kogu sajandi ideeliseks isaks oli inglise filosoof Francis Bacon (1561–1626). Bacon oli Elisabeth I ja James I ajal kõrgetel kohtadel kuni lordkantslerini, vallandati 1621. a. süüdistatuna altkäemaksuvõtmises. Loobus poliitilisest karjäärist ja pühendus filosoofiale. Bacon hülgas Aristoteelse õpetuse, mis valitses kogu keskaja. Baconi tähtsaimaks saavutuseks oli kindlasti induktiivse meetodi rajamine ja range nõue, et teadus ei tohi koguda üksnes fakte, vaid peab neid süstemaatiliselt kontrollima eksperimendiga. Baconi deviis – "*Nullius in verba*" – sai Inglise Kuningliku Seltsi lipukirjaks. Mitu seltsi liiget ütles oma sõna sekka embrüoloogia ajalukku juba seltsi algusaastail. Tõsi, embrüoloogiasse jõudis eksperiment alles kaks sajandit hiljem, kuid eksperimentaalbioloogiale tervikuna oli arenguks tõuge antud.

17. sajandil võeti loodusteaduses kasutusele mikroskoop. Esimesed mikroskopistid said tulisteks preformismiõpetuse pooldajateks. See oli täiesti loomulik asjade käik: mikroskoobiga oli võimalik näha seda, mida palja silmaga ei näe ja kui see on nii, siis miks ei või sugurakus peituda imeväike *homunculus*.

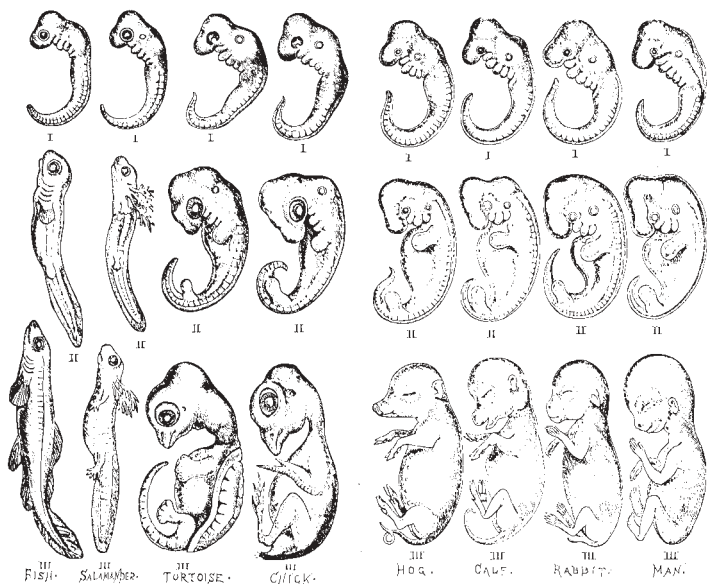
Jätame kõrvale vaadeldava perioodi mikroskopistide väärad tõlgendused ja ideelised möödalaskmised, kuid mikroskoopvaatlused rikastasid märgatavalt teadmisi organismide arenemisest. Hollandlasest iseõppija ja osav optik Anthony van **Leeuwenhoek** (1632–1723) kirjeldas koos Hamiga koera sperme. Itaallane Marcello Malpighi (1628–1694) vaatles kana embrüot ja Jan Swammerdam (1637–1680) kirjeldas putukate arenemist. Preformistid jagunesid omakorda kahte leeri: animalkulistid ehk spermistid ja ovistid. Esimesed nägid homunkulust spermis, teised munarakus. Mõneti läks preformism eriti naiivseks, kui püüti välja arvutada, kui palju inimpõlvi pidi olema paigutatud Aadama või Eeva sugurakkudesse. Kuulsaks said sellised nimed nagu Albrecht von Haller (1708–1777) ja Charles Bonnet (1720–1793). Esimese arvates pidi selliseid matroonataolisi homunkuleid olema $10^{100\ 000}$. Selle absurduse juures on ajaloolased jäänud siiski mõttesse, et ehk on tegemist hoopis sümbolitega. Siiski on raske uskuda, et selle aja tead-

lased kujutasid ette arengukoodi, mis tänapäeva mõistes oleks talletatuna DNA-s.

Kaasaegse embrüoloogia sünd

18. sajandi lõpul kerkis Saksamaal esile Kaspar Friedrich **Wolff** (1733–1794), kellest hiljem sai Peterburi akadeemik. Ta kirjeldas esmakordselt, kuidas kana embrüos moodustuvad organialged. Eriti veenev oli närviplaadi kujunemine neuraalvaoks ja seejärel sulgumine närvitoruks. Seega pani Wolff tähele vormi järkjärgulist muutumist ajas, mis oli vastuolus valitseva prefomismideega ning vallandas epigeneesi uue pooldamise. Wolffi ja teise kuulsa akadeemiku Karl Ernst **von Baeri** (1792–1876) töödega saab alguse juba kaasaegne embrüoloogia. K. E. von Baer oli Tartu Ülikooli meditsiinidoktor. Juba 1827, töötades Königsbergis, avastas ta inimese munaraku. Selle ajani peeti munaks hollandlase de Graafi poolt 16. sajandil kirjeldatud munasarjafolliikuli. Kaheosalises suurteoses "Über Entwicklungsgeschichte der Thiere. Beobachtungen und Reflexion" on detailne epigeneetiline kana embrüonaalse arengu kirjeldus, kus von Baer avastas kanalootes seljakeeliku ja näitas selle samasust kalade selgroo sees oleva seljakeelikuga. Karl Ernst von Baerile meeldis väga oma sõbra C. H. Panderi avastus lootelehtedest (idulehtedest) embrüonaalses arengus. Omalt poolt täpsustas von Baer Panderi kirjeldust (Pander kirjeldas muide nelja lootelehte) ja vaatles neid kui arenemise obligatoorset etappi. Tänu üksikasjalistele võrdlevatele embrüoloogilistele vaatlustele lõi von Baer selgroogsete tüüpide õpetuse ja formuleeris lootelise samasuse seaduse (joonis 1). Sellega näitas ta ontogeneesi suhtelist konservatiivsust. Kõige enne ilmuvad laierad (hõimkonna) tunnused ja siis edasi järk-järgult kitsamate süsteematiliste rühmade tunnused kuni liigi ja isendini välja. Darwini õpetust nimetas von Baer hüpoteesiks, kuna selles ei olevat näidatud liikide muundumisprotsesside mehhanismi(sid). "Von Baeri kontseptsioon teleoloogilisest sihipüüdlusest looduses pole leidnud mingit teaduslikku kinnitust. Seevastu on moodsad täppisteadused näidanud, et kogu universum – nii ülddisain, selle fundamentaalsed konstandid kui ka DNA tekkimine koos sellest tulenenud elusloodusega – on jäänud tänaseni inim mõistust ületavaks nähtuseks" (Ilo Käbin, 1992).

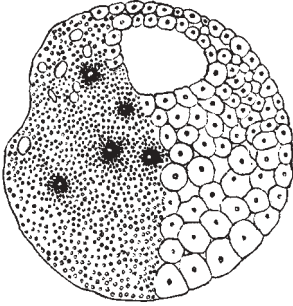
19. sajand on siiski eelkõige Darwini sajand ja evolutsiooniidee teeb endale teed embrüoloogiaski. Selle idee absolutiseerimisega sai tuntuks Ernst **Haeckel** (1834–1919). Haeckel muutis darvinismi enamoodi dogmaks, võttis ajaloolise arenemise sirgjoonelisel üle ontogeneesi. Ta ei tahtnud näha muid põhjuslikkust. Tõi sisse palju termineid, kuid oma



Joonis 1. Haeckeli illustratsioon von Baeri tüüpideõpetusele ja lootelise samasuse seadusele (Romanes, 1892 järgi). Kõigepealt ilmuvad arengus üldised (siin alanhöinkonna) tunnused, liigi ja isendi omad avalduvad viimases järjekorras.

põhiteesiga "Ontogenees on fülogeneesi lühikordus" loob embrüoloogia arengule takistuse. Haeckeli järgi on tähtis selgitada vaid fülogenees ja sealt on võimalik saada ülevaade ontogeneesist. Oma kinnisideed püüdis ta tõestada teadusele lubamatute võtetega: teadusajaloolased on Haeckeli töödest leidnud võltsinguid, mis ei saa olla juhuslikud näpuvead.

Evolutsioonilise embrüoloogia tegelikuks aluspanijaks on vene zooloog Aleksandr **Kovalevski** (1840–1901). A. Kovalevski rikastab embrüoloogiat rea originalsete töödega. Tänu oivalisele intuitsioonile valida uurimiseks sobivaid objekte (näiteks süstikkala ja astsiidid) suutis ta avastada palju üldbioloogilist. Kovalevski märkas selgroogsete ja selgrootute ontogeneesi varajaste järkude samasust ja põhjendas sellega kõigi hulkraksete samast arengut. Kovalevski oli ka esimene, kes sai aru embrüoloogia tähtsusest evolutsiooniteooriale. Embrüo lõigustumises, blastulas, gastrulas ja lootelehtede samases eristumises näeb ta loonariigi ühtsuse embrüoloogilisi tõendeid. Kovalevski töödele tuginedes rajasid E. Haeckel ja I. Metschnikoff oma teooriad loomade ühisest põlvnemisest käsnade või ainuõssete taolisest kahekihilisest eellasest.

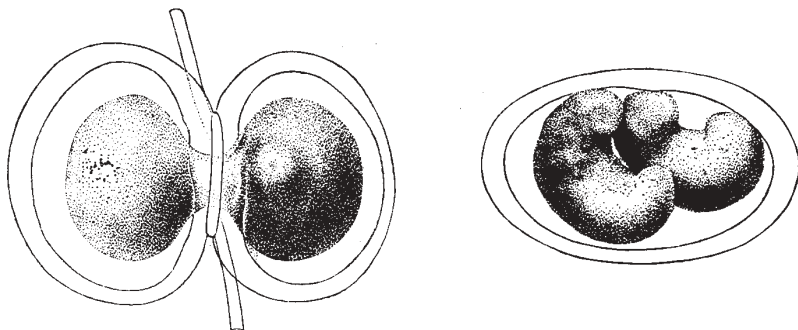


Joonis 2. Roux' katses arenenud amfiibi hemiblastula (Spenann, 1923 järgi). Lõigustunud on vaid parempoolne blastomeer, vasakpoolne blastomeer on summatud, kuid eemaldamata. Vt. lähemalt veel tekstist.

Selliselt vigastatud embrüöst arenes blastula, gastrula ja neurula, mis olid märgatavalt ebasümmeetrilised (joonis 2). Roux tegi järelduse, et kui ei ole morfoloogilist preformismi, siis võib olla keemiline preformism. Ühe blastomeeri sumamisega hävitati ka keemiliselt preformeeritud üks sümmeetriapool. Hiljem selgus, et Roux' katses oli viga, sest ta jättis eemaldamata kuumutatud blastomeeri, mis segas hilisemaid morfogeneetilisi liikumisi. Vaatamata sellele eksimusele oli Roux pannud aluse neopreformistlikule suunale embrüoloogias. Sellele suunale oli kahtlemata üheks peamiseks tõukejõuks August **Weismanni** doktriin, mille ta sõnastas 1892. a. idutee teorianana. Weismanni teooriast tuleb allpool põhjalikumalt juttu, selles oli modifitseeritult esindatud klassikaline preformism: ontogenees on determineeritud juba varases sügoodis ja vaid sealt pärinev iduplasma loob järjepidevuse põlvkondade ahelas. Mitu autorit olid varmad kinnitama, et ainuüksi sügodi ettevaatlik ligeerimine juuksekarvaga võimaldab saada kunstlikult kaksikuid (joonis 3).

Roux' ja teiste eksperimentaatorite ekslikkust näitas Hans **Driesch** (1876–1941), kes onkorda demonstreeris merisilikul, et igast neljast isoleeritud blastomeerist on võimalik saada täisväärtuslik organism. Driesch toob embrüoloogiasse mõiste *regulatsioon*, mille all ta mõistis embrüo osade võimet taastada arengus terviklik organism. Drieschi peetakse embrüoloogias üheks neopigeneesi suuna rajajaks.

Haeckeli vaadetele fülogeneesi üks-ühesest peegeldusest ontogeneesis astus vastu tema õpilane Wilhelm **Roux** (1850–1924), kes on tuntud kui eksperimentaalse embrüoloogia (Roux ise ristis oma teadussuuna arengumehaanikaks) rajaja. Embrüoloogilises uurimises levinud küsimus "kuidas?" asendus nüüd küsimusega "miks?". Roux' katsed olid lihtsad, aga see oli suur samm edasi embrüoloogilises uurimistöös. Kuulsaks sai ta 1886. a. tehtud katsetega, kui ta surmas kuumutatud nõelaga konna kahe blastomeeri saadiumis ühe tütarakkudest.



Joonis 3. Amfiibi sügooti soonistamine teatud tasapinnas (sagitaalligatuur) annab edaspidises arengus kaksikud (Spemann, 1923 järgi).

Nii Roux'l kui ka Drieschil on koos oma arvukate õpilastega suuri teeneid kahekümnenda sajandi embrüoloogia kujunemisloos. Eriti hoogsalt hakkab arenema eksperimentaalbioloogia, kus tuntuimaks saab Hans **Spemanni** (1869–1941) kool. Spemanni nimega on seotud seeria kaalukaid töid embrüonaalsest induktsioonist, mille eest ta sai 1935. a. Nobeli auhinna. Spemanni koolkonnast kasvab plejaad tuntud saksa teadlasi, temaga on otseselt või kaudselt seotud ka kuulus soome koolkond eesotsas Gunnar Ekmani (1883–1937), Sulo Toivoneni (1909–1995) ja Lauri Saxén'iga (1927), hollandi koolkond eesotsas P. D. Nieuwkoop'iga, briti koolkond eesotsas C. H. Waddingtoniga ning belgia uurijad A. Dalcq ja J. Pasteels.

Nagu juba varem öeldud, jäi embrüoloogia eksperimentaalse suuna kõrval suhteliselt nõrgaks evolutsiooniline embrüoloogia. Sellealast õnnestunud sünteesi võib märgata C. H. Waddingtoni ja vene teadlase D. Filatovi töödes. Viimane pani aluse võrdleva embrüoloogia viljakale koolkonnale, kelle ideeliseks eestvedajaks on kaua aega olnud T. A. Deltaff.

Milline on siis tänapäeva arengubioloogia ideeline alus? Seda võib sõnastada kui preformeeritud epigeneesi, mis tähendab, et DNA molekuli on kodeeritud kogu arenguloo molekulaarsed alused.

Arengebüloogia päevaprobleemid

Viimasel kahekümnel aastal on arengubioloogias olnud erakordne progress. Kuid vaatamata edule on jäänud hulk lahendamata probleeme. 1994. aasta lõpul küsitles ajakiri "Science" viitkümmend maailmas tuntumat arengubioloogi. Küsitluses oli kaks osa: missugused on

arengubioloogia kõige olulisemad lahendamata probleemid ja mis-sugustel aladel on oodata kõige kiiremat edu. Lahendamata probleemidena nimetati järgmisi.

- 1 Millised on morfogeneesi molekulaarsed mehhanismid? (36 teadlast paigutasid just selle probleemi esikohale).
- 2 Missugune on ontogeneesi ja fülogeneesi seos?
- 3 Kuidas rakud programmeeritakse teatud arengusuunale?
- 4 Milline osa on arengus rakkudevahelisel signalisatsioonil?
- 5 Kuidas kinnistatakse varases embrüos arengumustrid?
- 6 Kuidas neuronid loovad spetsiifilisi kontakte?
- 7 Kuidas rakud teavad, millal neil tuleb organo- ja histogeneesis jaguneda või surra?
- 8 Kuidas transkriptsioonifaktorid kontrollivad koe diferentseerumist?

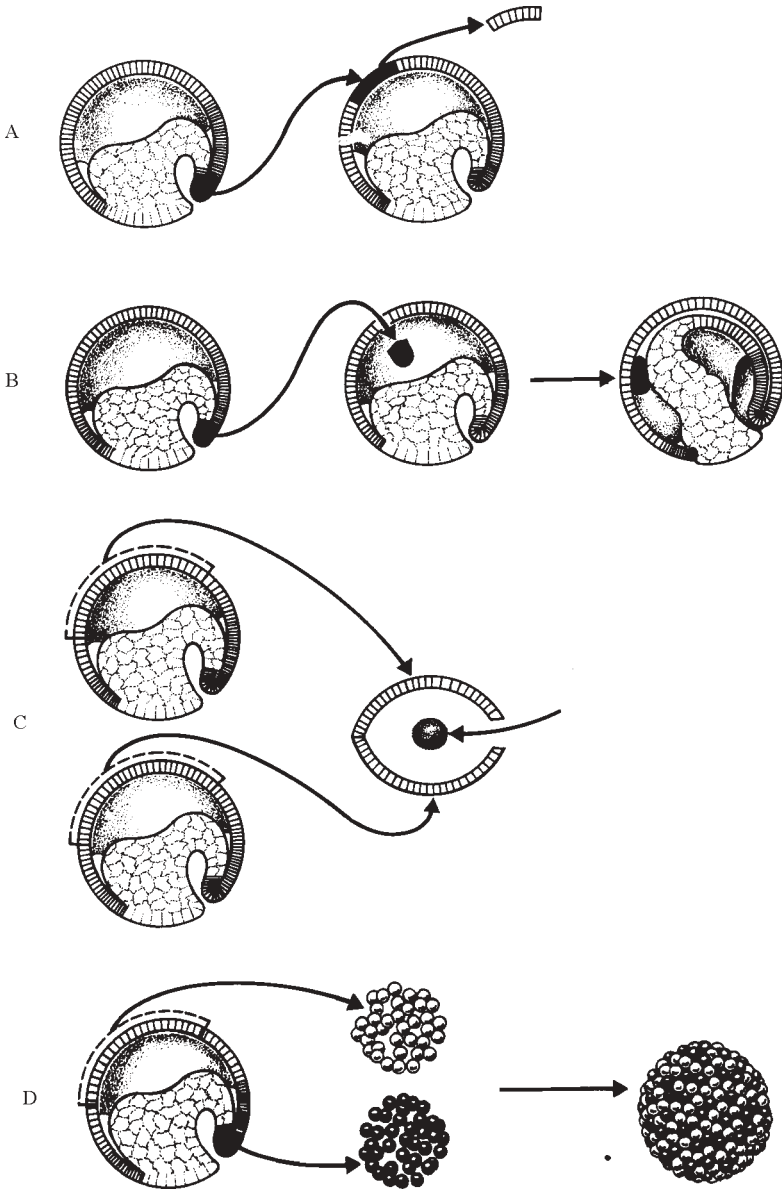
Alad, kus loodetakse kõige kiiremat edu, pandi küsitluses järgmisse pingerritta.

- 1 Rakkudevaheline signalisatsioon ja signaali ülekandekanalid (35 uurijat paigutas esikohale).
- 2 Morfogeneesimehhanismid.
- 3 Selgroogse arenemine, mis tugineb hiire ja sebrakala geneetikal.
- 4 Raku programmeerimine arengusuundadele.
- 5 Transkriptsioonifaktorite osa diferentseerumises.
- 6 Arengus oluliste uute geenide identifitseerimine.
- 7 Kuidas neuronid loovad spetsiifilisi kontakte?
- 8 Arengumustri ja polaarsuse kinnistamine varases embrüos.
- 9 Koeinduktsiooni molekulaarsed mehhanismid.
10. Raku jagunemise ja raku summa kontroll histogeneesis.
11. Arengu seos evolutsiooniga.
12. Taimed kui arengumudelid.

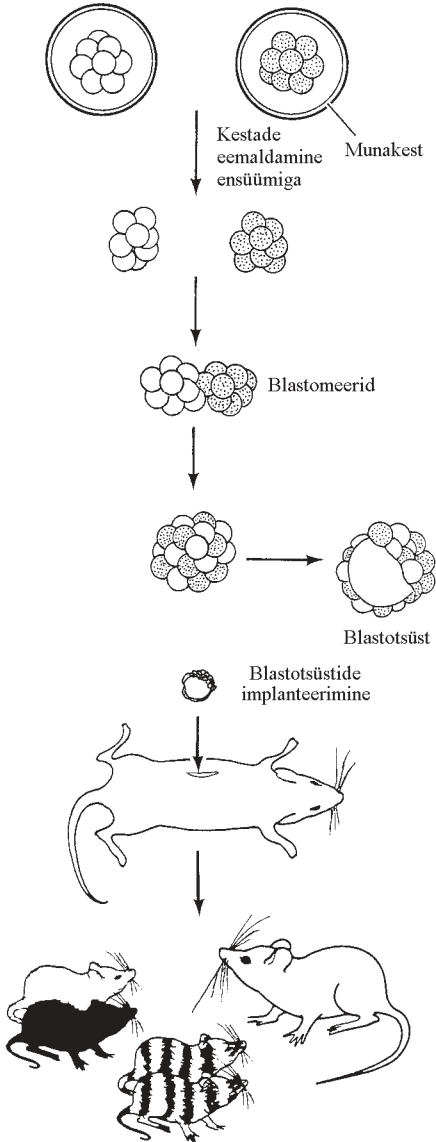
Küsitlusest selgub, et ontogeneesi ja fülogeneesi seosed jäävad pikema ajaks uurimistöö tulipunkti vastavalt arengu sünteesiteooria tellimusele.

Arengubioloogia meetodeist

Arengubioloogia meetodilisse arsenalil kuulub enamik ülalloeletud distsipliinide meetodilisi võtteid. Selle kõrval rakendatakse suhteliselt spetsiifilisemaid meetodeid, nagu embrüotel algete transplantatsioon, implantatsioon, eksplantatsioon, dissotsieerimine ja reagregerimine (joonis 4). Heteroplastiliste operatsioonide puhul kasutatakse histogeneesis jälgimisel just looduslikke märkeid, mis arengu jooksul ei



Joonis 4. Mõned näited arengubioloogia meetodeist anfiibi embrüotega (lühendatult Saxén, 1989 järgi). A – Spermanni transplantatsioonimeetod; B – Mangoldi implantatsioonimeetod; C – Holtfreteri eksplantaatsioonimeetod ("sandwich"); D – dissotsieerimine-reagregatsioon.



Joonis 5. Allofeensete loomade saamise katse käik (Gilbert, 1994 järgi mudatustega). Erineva värvusega lähteloomade 8-rakulised embrüod liidetakse ja implanteeritakse kasuema emakasse. Osa järglasi on kahevärvilised.

kaoks ega lahustuks. Kromosomsete markerite kõrval pakuvad huvi mitmesugused muud tsütoloogilised iseärasused, mille tuvastamine on vähem töömahukas kui tsütogeneetiline test.

Selliseks õnnestunud leiuks on lindude puhul kindlasti Douarini marker. Nimelt on põldvuti (*Coturnix coturnix*) rakutuunades ümber tuunakese rõngakujuline kromatiin, mis puudub kodukana (*Gallus domesticus*) rakkudes. Algete liikidevahelisel transplantatsioonil on võimalik edukalt uurida histo- ja organogeneese just tänu Douarini markerile. Tihti piisab transplantatsioonitulemuste jälgimiseks lähteloomade erinevast pigmentatsioonist (joonis 5). Viimasel ajal on meelis-meetodiks saanud transgeensed loomad ja genoomi regulatsioon alates geeni knock-out'ist ja lõpetades geeni superekspressiooniga.

Ontogeneesi periodiseerimine

Ontogeneesis saame eristada mitut perioodi, kus prevaleerub üks või teine arenguprotsess. Alljärgnevas kursuses vaatleme isendiloo järgmisi etappe:

I Gametogenees:

- oogenees,
- spermatogenees.

II Viljastumine ehk fertilisatsioon.

III Lõigustumine ehk segmentatsioon.

IV Gastrulatsioon.

V Organogenees.

VI. Postnataalne arenemine ja organismi kasvamine.

Embrüogenees kitsamas mõistes sisaldab viljastumist, lõigustumist, gastrulatsiooni, organogeneesi. Kuid ei ole võimalik mõista embrüogeneesi, kui me ei tunne gametogeneesi seaduspärasusi. Seetõttu on hädavajalik tutvuda sugurakkude arenemisega. Mitmed autorid on paigutanud gametogeneesi detailsema kirjelduse ontogeneesi lõppu, sest nimetatud arenemist on kergem käsitleda siis, kui organogenees on selge. Käesolevas kursuses vaadeldakse nimetatud teemat kahel korral. Esialt nii palju, et oleks võimalik mõista viljastumist ja edasist arenemist, hiljem organogeneesi juures vaadeldakse gonaadide arenemist ja soo determinatsiooni. Embrüonaalse arenemise seaduspärasused saavad paljuski paremini mõistetavaks, kui tutvutakse ka sünnijärgse kasvamise ja arenemisega.