

Oogenees (ovogenees)

Oogeneesi mitmekesisus

Munarakkude arenemine varieerub loomariigis väga suurtes piirides ja rida spetsiifilisi iseärasusi on kindlasti sügavalt kohastumuslikud. Kõikide küpsete munarakkude puhul torkavad silma nende erakordselt suured mõõtmed. Erinevalt somaatilistest rakkudest, kus ulatuslikku kasvamist saadab rakkude polüploidideerumine, suurenevad emassugurakud ennekõike tsütoplasma (ooplasma) arvel. On oluline, et ooplasma kasvab mitteaktiivsete varuainete arvel, mida kokku nimetatakse deutoplasmaks. Kasvamise käigus varutakse tagavaraks nukleiinhapped, valgud, lipiidid, süsivesikud, kuid samuti morfogeneetilised determinandid, mis aktiveeruvad varases embrüogeneesis ja tagavad arengu suhtelise autonoomsuse.

Tähelepanuväärne on oogeneesis kasvamise suur kiirus. Näiteks, *Drosophila* ootsüüt suureneb 3 päevaga 90 000 korda, tarakanil – mõne päevaga 2 500 000 korda, krabil – mõne nädalaga 20 000 korda. On selge, et munarakk üksinda oma jõududega ei suudaks nii kiiresti kasvada. Seepärast on evolutsioonis kujunenud rida abimehhanisme kiireks oogeneesiks.

Primitiivsetel loomadel, nagu käsnad, liigub sugurakk mööda organismi ja talletab varuaineid keharakkude õgimisega (fagotsütoosiga). Embrüoloogias tuntakse sellist munaraku arenemist **difuusse oogeneesi** nime all. Selliselt kasvanud käsnade ootsüüdid sisaldavad arvukalt rebuvakuole, mis on tegelikult väga sarnased keharakkude hetero-faagiliste vakuolidega. Ainuõssetel esinev difuusne oogenees on juba kõrgemate vormide oogeneesi elementidega. Hüdral arenevad sugurakud interstitsiaalrakkudest (*i*-rakud). *I*-rakud jagunevad mitootiliselt, kuid mittetäieliku tsütotoomia tõttu jäävad tütararakud plasmasilakes-tega omavahel ühendusse. Sellise kogumiku tsentraalne rakk hakkab

seejärel fagotsüteerima temaga ühenduses olevaid sôsarrakke.

Loomariigi põhienamusel areneb munarakk lokaliseeritult gonaadis, kus kasvamist abistavad mitmesugused abirakud. Munakambriis võivad munarakud olla seotud abirakkudega nõrgalt või ajutiselt. Sellisel juhul räägitakse **solitaarsest oogeneesist** (näiteks limustel). Termin pärineb vananenud arvamusest, et nende organismide munarakud ei ole abirakkudega üldse seotud.

Sugurakkudega tihedalt seotud abirakud on **alimentaarse oogeneesi** tunnuseks. Alimentaarses oogeneesis võivad abirakud olla mitmesugust päritolu ja erisuguse talitlusega, mistõttu eristatakse kahte alimentaarse oogeneesi vormi:

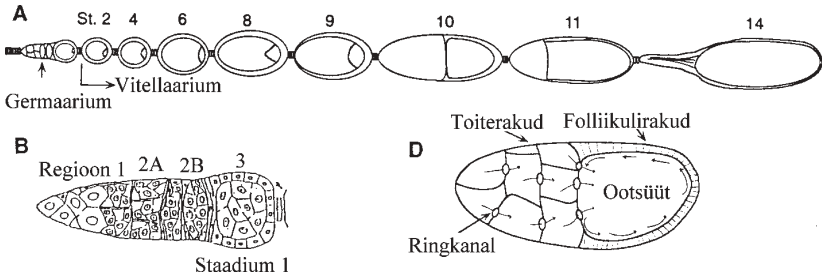
- **nutrimentaarne oogenees** ja
- **follikulaarne oogenees**.

Ürgsuustel loomadel on nutrimentaarne oogenees, kus vähemalt osa abirakke on sama päritolu kui sugurakud. Selliseid abirakke nimetatakse **toiterakkudeks**. Teissuustel loomadel esineb follikulaarne oogenees, kus abirakud on ainult somaatilist päritolu. Abirakud esinevad siin **folliikuliepiteelina**. (Olgu tähendatud, et ürgsuustel loomadel on sageli peale toiterakkude ka folliikuliepiteel.)

Ülaltoodud oogeneesi tüpiseerimine on küll vägagi tinglik, sest teada on rohkesti üleminevaid vorme ja uuritud on ju tühiselt väike osa kogu loomariigist.

Toiterakkude päritolu ja munaraku spetsifikatsioon ***Drosophila* oogeneesis**

Drosophila munasarjad koosnevad ovarioolidest, mis omakorda koosnevad munakambritest (joonis 8). Piki ovariooli on munakambriid lükitud järjestikku nagu helmed pärlikees. Oogenees saab alguse ovariooli anterioorses osas, mida nimetatakse germaariumiks. Germaariumi tipus olev tüvirakk jaguneb, mille tagajärjel üks tütararakk taastab tüviraku ja teine tütararakk annab tsüstoplasti. Tsüstoplast jaguneb mitootiliselt neli korda, mille tagajärjeks on 16 iduliini rakku, millest areneb üks ootsüüt ja 15 toiterakku. Germaarium jaguneb tsütoloogiliselt neljaks regiooniks. Tüvirakud ja mitootiliselt jagunevad tsüstoplastid asuvad regioonis 1. Regioon 2a sisaldab värskestl fommeerunud 16-rakulist tsüsti. Järgmises osas – regioonis 2b – on läätsekujuline tsüst, mille keskel paikneb tulevane ootsüüt. Regioonis 3 ümbritsetakse tsüst somaatiliste folliikuliepiteeli rakkudega. Nimetatud rakud hakkavad

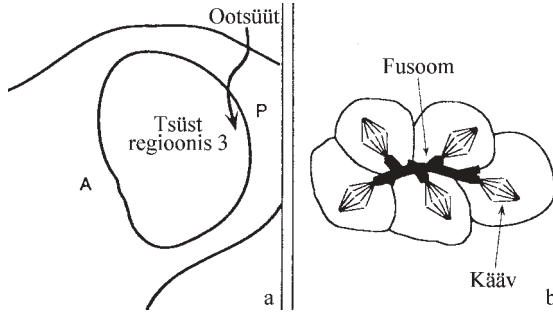


Joonis 8. *Drosophila* munasarja ehituse skeem (lühendatult Cooley, Theurkauf, 1994 järgi). A – üks paljudest munasarja ovaricoolidest sisaldab ketina paiknevaid munakambreid, kus ootsüüt on tagumises osas (joonisel paremal). Oogenees algab germaariumi (B) idutee tüviraku jagunemisega regioonis 1. Üks tütarakkudest taastab tüviraku, teine – tsüstoblast – jätkab nelja mitotäieliku mitoosiga, mille tulemuseks on tsüst 16 rakust, mis on omavahel ringkanalitega (D) ühendatud. Hilises oogeneesis voolab 15 polüploidse toiteraku tsütoplasma ringkanaleid kaudu munarakku. Vt. täiendavalt tekstist.

rändama germaariumi juba regioonis 2a, kuid tsüsti ümbritsemine lõpeb siiski regioonis 3. Folliikulieriteeliga ümbritsetud tsüst on ühtlasi munakambri arengu I staadium ja selles arenguastmes on munarakk vaadeldav tsüsti posterioorses osas. Teises staadiumis punguvad munakambriid germaariumist ja piki ovariooli võime näha erinevates arengufaasides olevaid munakambreid kuni staadiumini 14.

Drosophila oogenees on meroistiline, kuna tsüstoplasti jagunemisel saadud 16 tütarakku jäävad omavahel plasmatsildadega ühendusse. Selliseid plasmatsildu nimetatakse ringkanaliteks.

Kuni kuuenda staadiumini on tulevase munaraku ja toiterakkude kasvutempo peaaegu ühesugune ja nad on ühesuurused. Seitsmendast kuni kümnenda staadiumini endotsüteerib ootsüüt rebuvalke, mis on sünteesitud toiterakkudes ja folliikulieriteeli rakkudes. Seetõttu ootsüüt kasvab palju kiiremini kui toiterakud. Kümnendaks staadiumiks okupeerib ootsüüt juba kogu munakambri posterioorse poole. 10. staadiumi lõpust kuni 12. staadiumini kantakse ootsüüti ülejäänud toiterakkude tsütoplasma. Selle tagajärjel toiterakud kootuvad ja võib näha ootsüüdi ekspansiooni. Pärast sisenemist ootsüüti segatakse toiterakkude tsütoplasma ootsüüdi ooplasmaga väga kiire ooplasmalise liikumise tagajärjel. 13. ja 14. staadiumis ooplasmaliikumised katkevad ja



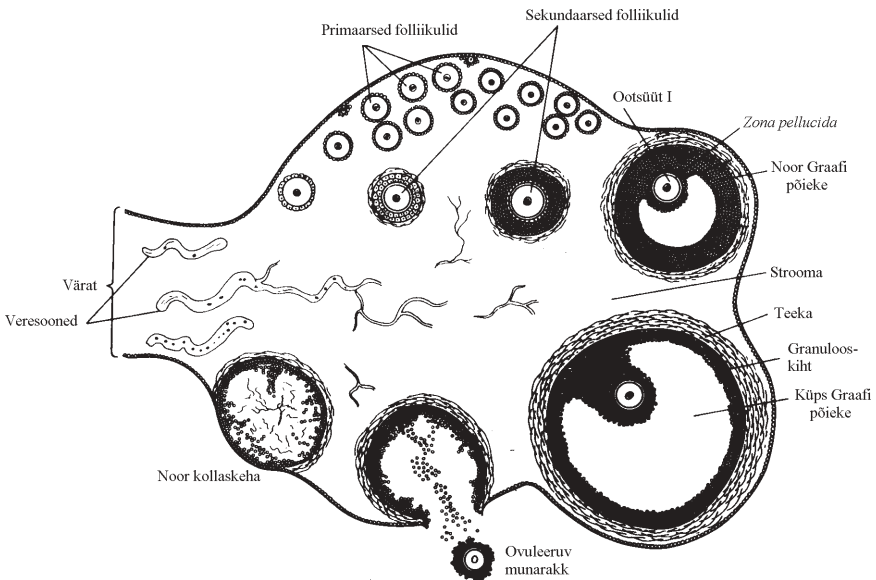
Joonis 9. Hüpoteesid ootsüüdi spetsifikatsioonist germaariumis (muudetult Cooley, Thekauf, 1994 järgi). a – mikrotoruksesi organiseeriv keskus ja polaargraanulid on regioonis 3 vaadeldavad vaid tulevase munaraku asukohas tsüsti tagumises osas. A ja P – anterioorne-posterioorne telg, b – idutee raku mitootilisel jagunemisel moodustub fusoom, mis ankurdab käävid ja kontrollib jagunemiste tasapindu.

moodustub meioosi 1. kääv. Ootsüüt jääb meioosi esimesse metafaasi, kuni on sisenenud ovidukti. Fertilisatsioon aktiveerib muna ning algab embrüonaalne arenemine.

Mitootiliselt jagunevatel sugurakkudel moodustub erinev hulk ringkanaleid. Ainult kahel rakul 16-st on neli ringkanalit ja kahel rakul kolm ringkanalit, neljal kaks ringkanalit ning kaheksal on üks ringkanal. Meioosiks vajalik sünaptoemiline kompleks, mida pannakse tähele juba germaariumi regioonis 2a, nähakse esialgu neljas rakus, millest kahel on neli ringkanalit ja kahel rakul kolm ringkanalit. Kui tsüstid küpsevad, siis laguneb sünaptoemiline kompleks kõigis rakkudes, v.a. ühes nelja ringkanaliga rakus. Sellest rakust kujunebki tulevane munarakk.

Kuidas toimub ootsüüdi spetsifikatsioon germaariumis? Miks just üks nelja ringkanaliga rakk saab õiguse olla munarakk? Üheks selliste mehhanismide selgitamise võimaluseks on jälgida tsüstoblasti mitootilise jagunemise ajal **fusoomi**. See on mitootilistest käävidest membraaniga seotud mikrotoruksede ja väikeste vesiikulite sisaldisega struktuur (joonis 9). Mida rohkem tütarrakke ehk tulevase munakambri rakke mitootiliselt juurde tuleb, seda rohkem fusoom hargneb ja seob ringkanalite kaudu

üksikud tütararakud terveks munakambriks. Fusoomi hargnemine tuleneb sellest, et mitootilise tsüstoblasti iga kääv on ühe poolusega seotud fusoomiga. Seega määrab käävi orientatsiooni mitootilisel lõigustumisel fusoom. Kui neli mitootilist rakutsüklit on lõpetatud, fusoom kaob. Võimalik, et tsüstoblasti jagunemise muster paigutab ühe nelja ringkanaliga rakkudest vastu somaatilist kude, kust saadakse signaal areneda ootsüüdiks. See näib olevat ebatõenäoline, kuna uuesti moodustunud 2a regiooni tsüstid orienteeruvad germaariumi telje suhtes juhuslikult. Alternatiivne mudel (joonis 9a) ootsüüdi spetsifikatsioonis pakub tsüstoblasti ebavõrdse jagunemise idee. Oletatakse, et mitooside ajal saab üks rakk endale kõik vajalikud tegurid. Viimane mudel on analoogiline P-graanulite segregatsiooniga idurakkude eellastesse *Caenorhabditis elegans*'i embrüonaalsete mitooside ajal. Selles mudelis on fusoom ootsüüdi



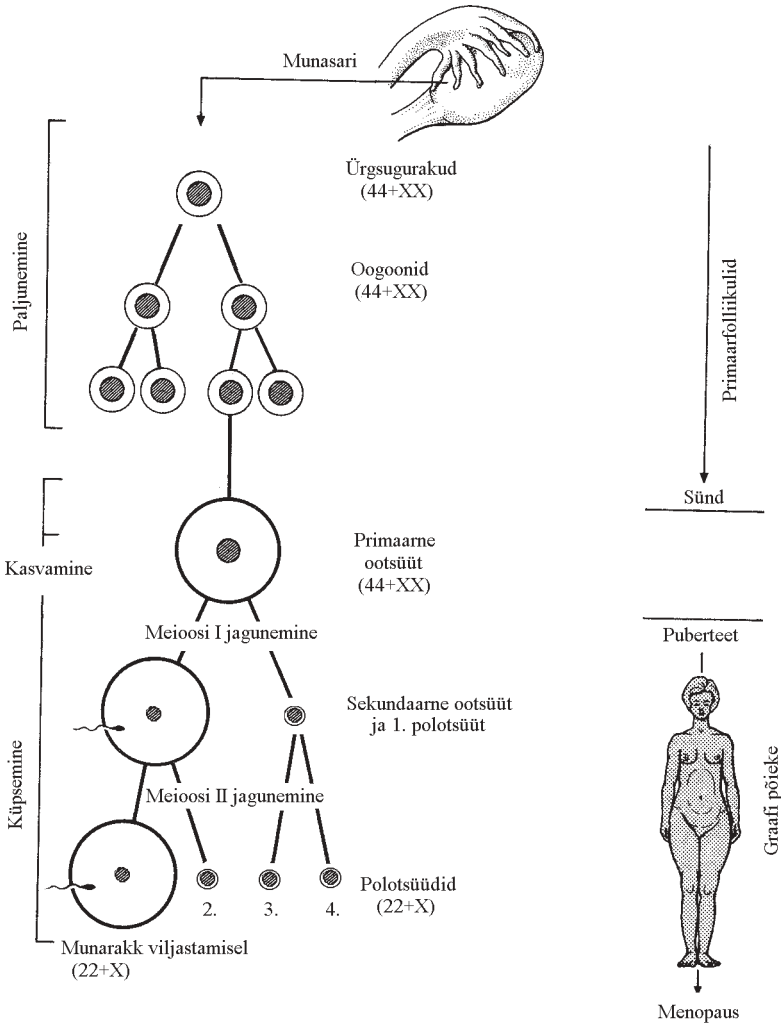
Joonis 10. Imetaja munasarja skemaatiline ehitus (Toivonen, 1968 järgi). Vt. lähemalt veel tekstist.

spetsifikatsioonil kriitiliseks struktuuriks, kuna ta kontrollib tsüstoblasti jagunemiste geomeetriat ja võimaldab asümmeetrilist segregatsiooni ootsüüdi determineerimiseks. Ei ole selge, kumb esitatud hüpoteesist on tegelikkusele lähemal.

Folliikuliepiteel imetaja oogeneesis

Munarakud koos folliikuliepiteeliga moodustavad munasarjas **ovariaalfolliikuleid** (joonis 10). Munasarja koore kõige pindmises osas, otse sidekoelise valkjaskesta all asetsevad **primaarsed folliikulid**. Munarakud on siin ümbritsetud folliikuliepiteeli rakkude ühe kihiga. Kasvuprotsessis olevaid folliikuleid nimetatakse **kasvavateks** ehk **sekundaarseteks folliikuliteks**, kus folliikuliepiteel on kihistunud ja kattub sidekoelise kihnuga (*teeka*). Munaraku ümber on selgemini eristatav rebukest ehk *zona pellucida*. Edasisel kasvamisel moodustub folliikuliepiteeli sisse õõs, mis täitub folliikulivedelikuga. Selliseid folliikuleid nimetatakse **tertsiaarseteks ovariaalfolliikuliteks** ehk **Graafi pöiekesteks**. Folliikuliõõnde kummub ootsüüti sisaldav, folliikuliepiteelist moodustunud munakülm. Kihistunud folliikuliepiteeli nimetatakse tavaliselt granuloosaks. Folliikuliepiteeli rakud ümber munaraku paiknevad radiaalselt ja moodustavad **kiirpärja (*corona radiata*)**. Munaraku vabanemisel ovariaalfolliikulist ehk ovulatsioonil rebenevad granuloosa, teeka ja munasarja väliskestad. Granuloosa ja teeka rakkudest moodustub ajutine endokriinorgan **kollaskeha (*corpus luteum*)**, mis produtseerib progesterooni. Hormonaalselt aktiivne on ka ovariaalfolliikulis olev folliikuliepiteel, tootes östrogeene.

Peale hormonaalse aktiivsuse peetakse folliikuliepiteeli ülesandeks rebuvalkude vajaliku kontsentratsiooni loomine munaraku pinnal. See on pinotsütoosi eelduseks. Mitte iga verevalk ei pääse läbi folliikuliepiteeli munaraku pinnale, mistõttu folliikuliepiteel on ümber munaraku rebuvalgule põhiliseks selektoriks ja filtriks selle talletumisel ootsüüti.



Joonis 11. Inimese oogeneesi skeem (Schumacher, 1988 järgi parandustega). Pangem tähele, et emassugurakkude paljunemine lõpeb enne sündi ja emassugurakkude meiotiline jagunemine on ebavõrdne: vaid üks neljast tütarrakust (munarakk) saab põhilise osa tsütoplasmast.

Oogeneesi staadiumid

Vaatamata oogeneesi suurele varieeruvusele, on pea alati võimalik eristada munarakkude arenemises kolme järjestikust staadiumi: paljunemisperioodi, kasvamisperioodi ja küpsemisperioodi (joonis 11). Skeemist ilmneb oogeneesi printsiopiaalne erinevus spermatogeneesist (vt. ka joonis 6). Sugulisel teel paljunevate loomade evolutsioonis on emas- ja isasgameetide diferentseerumine toimunud vastupidistes suundades. Munarakkudel on tendents saavutada üha suuremaid mõõtmeid ja nad kaotavad liikuvuse. Seemnerakkude evolutsiooni trendiks on toota võimalikult rohkem liikuvaid rakke, mis kaotavad enamuse oma tsütoplastmast.

Munarakkude paljunemisperiood

Emassugurakud paljunevad mitootilise jagunemisega ja kannavad sel perioodil nimetust **oogoonid**. Paljunemisperioodi mehhanismid sõltuvad muidugi looma sigimisbioloogilistest iseärasustest. On liike, kelle emasloom produtseerib igal aastal sadu või tuhandeid mune, ja teisalt selliseid, kel kogu elu jooksul valmivad vaid üksikud sugurakud. Näiteks kaladel, nagu haugil ja karplastel on koetud munarakke üle 100 000, tursal 2,9–9,0 miljonit. Termiidi *Termes bellicosus* ema muneb päevas 30 000 ja aastas 10 miljonit muna. On muidugi piisavalt vastupidiseid näiteid, eriti lindude ja imetajate hulgas. Kõrge produktiivsusega rühmadel, nagu kalad ja amfiibid, on oogoonid isetaastuv tüvirakkude populatsioon. Sellised tüvirakud annavad sigimisperioodidel uued kohordid rakkusid, mis kasvavad ja küpsevad munadeks. Väikese produktiivsusega rühmadel, nagu imetajad, lõpeb emassugurakkude paljunemine erinevalt isassugurakkudest varases embrüonaalses eas. Näiteks inimesel on maksimaalne arv emassugurakkusid (ligi 7 miljonit) loote arengu viiendaks kuuks. Vastsündinud tütarlapsel on sugurakkude arv aga juba tugevasti kahanenud ja kogu hulka hinnatakse ligilähedaselt ühele miljonile. Postnataalselt jätkub sugurakkude

arvu kiire vähenemine ja 7-aastaselt tütarlapsel on sugurakkusid järel vaid 300 000. Lihtsa arvutusega on siiski selge, et ka see lähtearv on täiesti piisav suguküpsuse perioodi varustamiseks sugurakkudega. Kogu suguküpsuse perioodil on võimalik maksimaalselt "ära kasutada" vaid 300-400 ootsüüti. Kui väljaspool emasorganismi arenevatel loomadelt on suur gameetide arv liigile tähtsaks eelduseks olelusvõitluses ellu jääda, siis milleks on imetajatel ja samuti inimesel vaja produtseerida sugurakkusid ülehulkades? Üldlevinud seisukoha järgi oletatakse, et oogeneesi käigus hukuvad või hävitatakse defektsed rakud. Seega peab sugurakkude tasemel toimuma range kvaliteedi kontroll ja olema mehhanismid ebanormaalsete rakkude kõrvaldamiseks. Histoloogiliselt on hukkuvate munarakkudega munasarjafolliikulid tuntud atreetiliste folliikulite nime all.

Munarakkude kasvamisperiood

Kasvav emassugurakk kannab nimetust **ootsüüt**. Kuna akumulereeritavate ainete põhimassiks on rebuvalgud, käsitletakse kasvamisperioodi rebumoodustumise ehk vitellogeneesi nime all. Nagu juba eelnevalt on rõhutatud, ei ole varuainete – deutoplasma – koostises mitte ainult rebuvalgud, vaid kogu vajaminev materjal organismi varaseks ülesehituseks.

Varuainete koostis

Munarakud sisaldavad tohutul hulgal **varunukleiinhappeid**. Kalade uurimine näitab, et küpses munas on mõni tuhat kuni kümned tuhanded kordi rohkem DNA-d kui diploidses somaatilises rakus. Selline DNA on vaid kaduvalt väikses hulgas kromosomaalne. Põhiline osa ekstrakromosomaalsest DNA-st kuulub mitokondritele. Laialt on tuntud selgroogsete ribosomaalse DNA amplifitseerumine meioosi profaasis. Kannuskonnal ületab selline DNA 30-50 korda sama liigi haploidse suguraku DNA väärtuse. Oogeneesi lõpul, kui munaraku tuum

(idupõieke) lõhkeb, ei ole amplifitseerunud ribosomaalsel geenil enam sünteetiliselt aktiivsust ja ta lisatakse üldisesse ekstranukleaarse DNA depoosse. Selle DNA edasine saatus ei ole teada. Pärast viljastumist algab pronukleustes ja mitokondrites uuesti DNA süntees. Vingerjal on leitud, et DNA alfapolümeraasi (kromosomaalse DNA replikatsioon) ja gammapolümeraasi (mitokondriaalse DNA replikatsioon) aktiivsus muutub arengu jooksul vähe, polümeraasi beetavorm (DNA reparatsioon) aga suureneb kolm korda arengu esimese 20 tunni jooksul.

Munarakkudesse varutakse suurtes kogustes RNA-d. Enamus sellest RNA-st on ribosomaalsete RNA-de fraktsioon. Vingerja viljastumata munarakkude uurimisel on selgunud, et 95-98% kogu RNA-st on rRNA.

Erinevate ribosomaalsete RNA-de süntees ei ole oogeneesis sünkroniseeritud. RNA 28S ja 18S, rRNA suurimad molekulid, produtseeritakse amplifitseerunud geenidel ja seega transkribeeritakse rebu moodustumise ajal. Teisest küljest, 5S RNA-d produtseeritakse märksa varem ja mitteamplifitseerunud geenidel. Need erinevad RNA-d säilitatakse eri tüüpi nukleoproteiinsetes partiklites. Transport-RNA-d on kogu RNA-st vaid 1,5%.

Munarakus on valmis kujul ka ribosoomid, kuid erinevalt loote samadest struktuuridest ei ole sellised ribosoomid aktiivsed. Valku sünteesivate struktuuride inaktiivsus ei ole selge. Oletatakse, et osa inhibeerivaid tegureid on otse ribosoomides.

Kui keharakus on ribosoomi raku kohta 10^6 - 10^7 , siis munarakus võib ribosoomi olla mitme suurusjärgu võrra rohkem. Näiteks imetaja munarakus, mille maht võrreldes keharakuga on suhteliselt tagasihoidlikum, on ribosoomi 10^8 , s.o. 1-2 suurusjärgu võrra rohkem. Konna munarakus on aga ribosoomide arv 10^{11} - 10^{12} , s.o. õige mitu suurusjärku suurem.

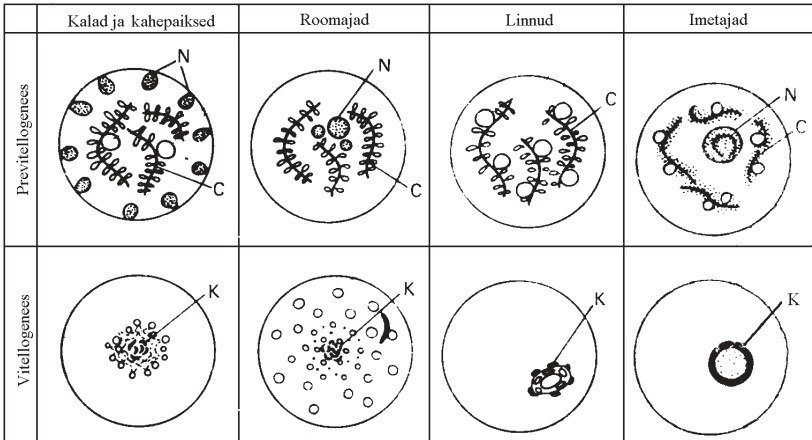
On teada, et küpsesse munarakku on varutud väga suurtes kogustes mRNA-d. Merisiiliku munas teatakse 25 000-50 000 erisugust ekstratranskripti, mida transleeritakse alles tulevases embrüogeneesis.

Märkimisväärsetes kogustes on munarakkudes mitokondriaalset RNA-d.

Valgud on munaraku varuainetest kõige mahukam osa. Histoone on munarakus varutud keskeltläbi 100 tuumale, mistõttu esimeste lõigustumiste ajal ei ole histoone tarvis sünteesida. Polümeraase on varutud kuni 100 000 tuuma jaoks. Kõige suurem on kindlasti rebuvalkude osa, mis on tegelikult aminohapete reservvalkude sünteesiks tulevases arenemises. Rebuvalguna on tuntud **vitellogeniin**-liitvalk, mis põhiliselt koosneb kahest alaosast: fosfitiinist molekulmassiga 40 000 ja lipovitelliinist, mis on sellest kümme korda suurema molekulmassiga. Vitellogeniini kolmandaks komponendiks on tõenäoliselt beetal. Lipovitelliinid on glükolipofosfoproteiinid. Lipovitelliini molekul ja tema alaosad varieeruvad liigiti suurtes piirides. Aminohappeline koostis on lipovitelliinil suhteliselt konservatiivne. Kui võrreldi forelli ja kannuskonna lipovitelliinide kompositsiooni, siis selgus, et forellil on seriini vähem (vastavalt 5% ja 8%) ja valiini rohkem (vastavalt 8,3% ja 5,1%). Fosfitiinid on fosfoproteiinid. Nad on fosforirikkad (vikerforellil 15,8%), kuid lipiidi ja süsivesikuvaesed. Nagu fosfitiin nii on ka beetal komponent seotud immunoloogiliselt vitellogeniiniga, kuid tal on erinev aminohappeline koostis võrreldes kahe nimetatud molekuliga. Ta ei sisalda lipiide ega fosforit ja ta päritolu ei ole selge. Östradiooliga indutseeritud vitellogeneesis on leitud veel üks mRNA, mis viitab mingi seni tundmata valgu sünteesile.

Peale valkude talletatakse **rasvu, süsivesikuid, kaalium- ja kaltsiumioone**. Muna lipiidid on seotud kas rebuvalkudega, nagu lipovitelliin, või on segregeeritud õlitilkadena rebumassis. Lipovitelliinid sisaldavad põhiliselt fosfolipiide, õlitilgad sisaldavad neutraalseid lipiide, põhiliselt triglütseriide. Varases vitellogeneesis akumuleerub osa fosfolipiide lipiidinklusioonidena. Need on tõenäoselt endogeenset päritolu. Suured rasvavarud on kalade küpsetes munades. Väidetakse, et sellised rasvavarud võimaldavad kalamaimudel pikka aega nälgida. On tõenäone, et rasvad ei osale mitte ainult maimude ainevahetuses, vaid tagavad ka nende hüdrodünaamilised omadused.

Kaladele on veel iseloomulik munarakkude suur veesisaldus, mis mere luukaladel ulatub 85-97%-ni. Selline suur veehulk tagab muna-



Joonis 12. Selgroogsete munaraku tuuma muutused oogeneesis (Gruzova, 1988 järgi parandustega). N – tuumakesed; C – lambiharikromosoomid; K – karüosfäär.

rakkude parema ujuvuse. Munaraku vesi pärineb emasorganismist ja tema tihedus on merevee tihedusest väiksem.

Eespool nimetatud ühenditele lisaks peavad olema munarakus ka **morfogeenid**, ühendid, mis genoomi reguleerides – aktiveerides või pärssides – võimaldavad keerulise kuju ehitamist embrüogeneesis. Morfogeenide ülesannetes võib olla nii nukleiinhappeid, valke kui ka teisi ühendeid. Eriti oluline on morfogeenide puhul deponeerimise topograafia ja mehhanismid nende fikseerimiseks munaraku kindlas piirkonnas. Morfogeene vaatleme lähemalt allpool nutrimentaarse oogeneesi juures ja hiljem arengumehhanismide molekulaarsete aluste käsitlemisel.

Nukleiinhapete autotroofne ja heterotroofne varumine

Difuusse oogeneesi puhul on kogu varuainete talletamine lüsoosmaalse aparraadi funktsioon, kus munarakk õgib naaberrakke ja lüsoosoomides lamutamise järel talletab saadud materjali oma tsütoplasmas.

Alimentaarsel oogeneesil varutakse nukleiinhappeid nii autotroofselt kui ka heterotroofselt viisil. Follikulaarse ja solitaarse oogeneesi puhul on nukleiinhapete varumine põhiliselt **autotroofne**, s.o. munarakk sünteesitakse neid ise. Nukleiinhapete autotroofset varumist toetab mitu lisamehhanismi. Tuletagem meelde, et vitellogeneesi ajal on

munarakk meioosi esimeses profaasis – diploteenis, mil rakus on DNA hulk 4c. Lisamehhanismina tuleb rõhutada geeni amplifikatsiooni, kus kordistatakse ribosomaalseid RNA-sid kodeerivat geeni, mis seejärel isoleerub kromosoomist ja rändab tsütoplasmasse. Seetõttu on ootsüüdi ekstratumakesi arvukalt nii tuumas kui ka tsütoplasmas. Lõppkokkuvõttes tõstetakse amplifikatsioonil DNA hulk veel 3,9 korda suuremaks, kui on meioosi profaasis oleva raku DNA 4c. Kannuskonna ootsüütides on rDNA põhiline amplifikatsioon pahhüteenis, kuid algab tõenäoselt juba oogoonides. Diploteenis ulatub munaraku tuumakeste arv juba 1500-ni. Samal ajal läheb ligi 30% kogu valgusünteesist ribosomaalsete valkude produtseerimisele.

Mõnede luukalade ja tuura ootsüütides moodustub pahhüteenis tuumakatte vastas sərbikujuline DNA-d sisaldav keha, mis lülitab aktiivselt ^3H -tümidiini. Nende kehade juures moodustub arvukalt tuumakesi. Tsütofotomeetriliselt on näidatud, et DNA-d on tuura diploteenes ootsüüdis 50 korda ja sterletil 31 korda rohkem kui haploidses rakus.

Eriliseks nukleinhappe kiire sünteetise võtteks on meioosi profaasis spiraliseerunud kromosoomide osaline despiraliseerumine. Selliseid kromosoomide erilisi vorme tuntakse lambiharikromosoomidena. Tegemist on morfoloogilise tõendiga mRNA intensiivsest sünteetisest DNA despiraliseerunud lingudel. Munaraku tuuma ehituse järgi on võimalik otsustada, millal just toimub nukleinhapete põhiline sünteetis oogeneesis. Selgub, et lambiharikromosoomid ja arvukad tuumakesed esinevad follikulaarses oogeneesis varases diploteenis ja seega enne rebuvalkude intensiivset varumist. Rebuvalkude varumise ajal liituvad munaraku kromosoomid tuumas **karüosfääriks**, mis on pealt kaetud tiheda kapsliga (joonis 12). Kapsel on liigiti väga varieeruva ehitusega, kuid enamasti on moodustunud tuumakestest ja tuumakatte materjalist koos tuumapooridega. Karüosfääri ilmumine on igal juhul tõend ribonukleinhapete sünteetise lakkamisest munaraku tuumas.

Seni ei ole täit selgust, kui suur osa nukleinhappeid varutakse follikulaarsel oogeneesil heterotroofselt, s.o. teiste rakkude poolt. Folliikulepiteeli osa varuainete sünteetisil on olnud pikka aega vaidluse objektiks. Lindude oogeneesis on avastatud, et folliikulepiteeli rakkude jätketest nõõrduvad ootsüüti erilised partiklid, mida on nimetatud transosoomideks ja ka piirdekehadeks. Sellistes partiklites on leitud

hulgaliselt ribosoomide, kuid kahjuks puuduvad täpsemad uurimused transosoomide osa kohta hilisemas arengus ja kui suure osa nad varunukleiinhapetest moodustavad.

Nutrimentaarsele oogeneesile on iseloomulik nukleiinhapete **heterotroofne** varumine. Selleks on oogeneesis lisaks somaatilisele folliikuli-epiteelile abirakkudena välja kujunenud veel toiterakud, mis on sugurakkudega sama päritolu. Toiterakkude arv ja ehitus varieeruvad liigiti väga. On teada anneliide, kus ootsüüdil on vaid üks polüploidne toiterakk, ja tigused, kus ühe ootsüüdi kohta on ovaaris umbes 2000 haploidset toiterakku. Tüüpiliselt toiterakud polüploideeruvad, eriti polütroofsetes ovarioolides, kus igal ootsüüdil on oma toiterakkude komplekt.

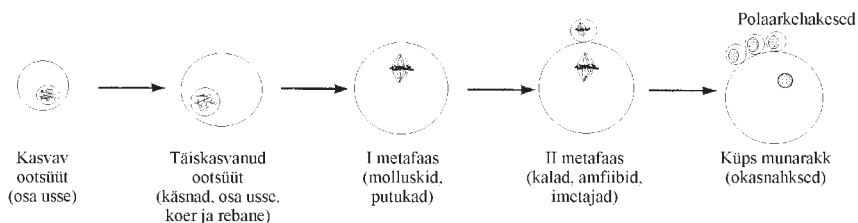
Näiteks *Drosophila* toiterakkude tuumade ploidsusaste on $512n-1024n$ ja nad suurenevad kuni 6000 korda. Munaraku tuum on sellisel juhul inaktiivne, mida tõendavad karüosfääri esinemine ja tuumakeste puudumine rakutuumas. Ribosoomide tootmine on munarakust üle kantud toiterakkudesse. Telotroofsetes ovarioolides, kus munarakudel on ühine toiterakkude koondis, on polüploideerumine märksa tagasihoidlikum ja munaraku tuum säilitab vähemalt ajutiselt oma sünteetilise aktiivsuse.

Kuidas kasutatakse tulevases embrüogeneesis toiterakkude teisi rakuorganelle peale ribosoomide, ei ole teada. Küll on kirjeldatud mitokondrite liikumist toiterakkudest munarakku.

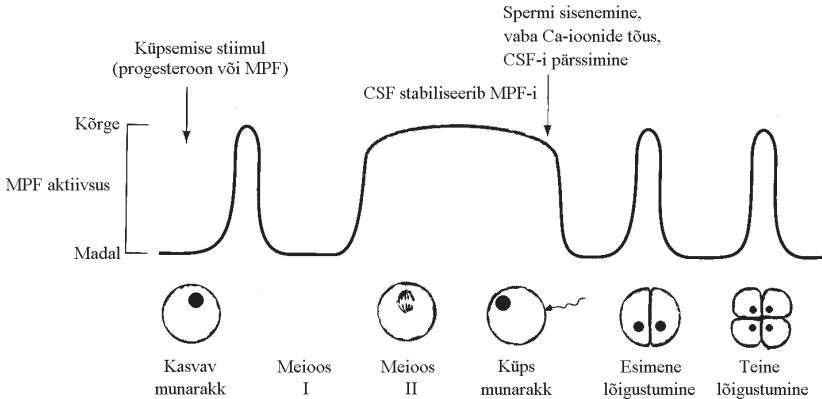
Morfogeenide päritolu ja paigutus *Drosophila* oogeneesis

Vähemalt osa morfogeneetilisi molekule, mis determineerivad tulevase organismi teljed koos anterioorse-posterioorse koordinaadistikuga, pärinevad toiterakkudest ja deponeeritakse munarakus polaarselt. Näiteks, ema geeni *bicoid*-produkt, tema mRNA, mis on ühtlasi primaarne anterioorne morfogeen, paikneb munaraku anterioorses korteksis. *Vasa*- ja *staufeni*-valgud ja *oskar*-mRNA, mida on vaja polaarrakude formeerumiseks ja posterioorseks mustriks, asuvad posterioorses ehk tagumises pooles. *Gurken*-geeni mRNA, millel on juhtiv osa looma dorsoventraalse telje spetsifikatsioonil, akumulēerub dorsaalselt ootsüüdi tuuma ja väliskorteksi vahel.

Mis kannab emapoolsete geenide produktide gradienti munarakus? Nagu öeldud, üks esimesi anterioorse-posterioorse telje määrajaid – *bicoid*-transkript – ankurdatakse munaraku anterioorses osas. Selle gradiendi loomisel on kindlasti oluline osa anterioorse korteksi mikrotorukestel. Kui munakambreid inkubeerida selliste ühenditega nagu nokodatsool (sünteesiline ühend, mis lammutab mikrotorukeste paigutuse), ei ole *bicoid*-transkript suuteline kanduma ootsüüti. Kui aga mikrotorukeste inhibiitoreid lisada pärast *bicoid*-mRNA transporti munarakku, ei ole viimane võimeline lokaliseeruma vaid anterioorses korteksis. Teised komponendid, mis on seotud gradiendi loomisega, on *swallow*- ja *exuperantia*-geenide produktid. Mutatsioonid, mis on seotud viimati nimetatud geenidega, põhjustavad *bicoid*-transkripti leviku nihkumise posterioorses suunas. Siinjuures on huvitav, et *exuperantia*-geeni produkt on vajalik *bicoid*-teate paigutuseks eesmise ossa, kuid sama geeni produkt ei ole suuteline seda teadet vajalikus kohas kinnistama. Vajalik stabilisatsioon tuleb *swallow*-geeni produktist. Kindlasti on tsütoplasma transpordiga toiterakkudest seotud aktiinfilamendid. *Drosophila quail*-geeni muteerumisel on emasputukad steriilsed. Ilmneb, et selliste loomade toiterakkudel ei paigutu aktiin-kiudude kimbud korrektselt. Nimetatud geen kodeerib selgroogsete villiinistaolist valku, mis reguleerib



Joonis 13. Näiteid spermi penetratsiooni liikidevahelistest erinevustest (lihtsustatult joonistatud Austin, 1965 järgi). Selgub, et munarakk võib ühineda seemnerakuga mitmesuguses küpsusastmes.



Joonis 14. Munaraku küpsemist vallandava teguri (MPF) aktiivsuse kõikumine kannuskonna varases arengus (joonistatud Gilbert, 1994 järgi). Küpsemise normaalseks signaaliks on progesteron, mis stimuleerib ootsüüdi ovulatsiooni ja meioosi jätkumise kuni meioosi II metafaasini. CSF – tsütostaatiline faktor.

aktiini morfogeneesi. Seda valku sünteesitakse ainult täiskasvanud putukas idutee rakkudes.

Ühesuunalise transpordi toiterakkudest munarakku tagavad veel mikrotorukeste mootorid: düneiinid ja kinesiinid. Täiskasvanud emaste ovaarides ekspresseerub geen *Dhc64C*, mis kodeerib tsütoplasmaatilise düneiini raske ahela – polüpeptiidi. Ka selle geeni mutantidel on transport munarakku katkenud.

Rebuvalkude päritolu ja sünteesi hormonaalne regulatsioon

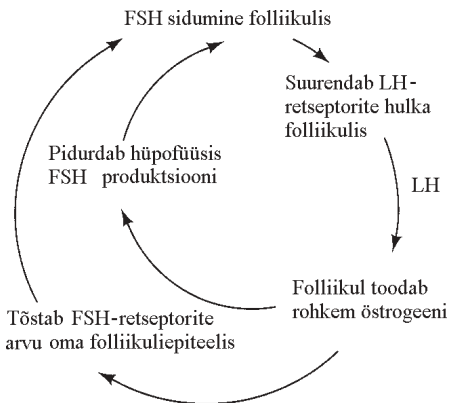
Rebuvalgud sünteesitakse enamusel juhtudel gonaadist eemal teistes organites, v.a. üksikud erandid nutrimentaarses oogeneesis (vt. allpool).

Juba 1930. aastatel pandi tähele, et lindudel on rebuvalgud suhteliselt sarnased verevalkudega. Mitmesuguste eksperimentidega amfiibide juures leiti, et vitellogeniin, liitvalk koos oma kahe alaosaga, sünteesitakse tõepoolest maksas ja selle süntees on östrogeeni mõjul. Östrogeen on antud juhul otsene genotroopne ühend, mis vallandab maksarakus rebuvalgu

geenide ekspressiooni. On huvitav märkida, et rebuvalke on suuteline sünteesima ka isaskonna maks, kui talle manustada östrogeene.

Drosophila põhilised rebuvalgud moodustuvad rasvkehas ja osaliselt ka folliikuleepiteelis. Rebu sünteesi kontrollib mitu omavahel seotud hormooni, nagu juveniilhormoon ja ekdüsoon, kuid ka selline kesk-konnategur nagu fotoperiood, või hoopis füsioloogiline protsess nagu toitumine. Selliste mõjurite märklauaks on emasputuka genoomi regioon kahe rebugeeni vahel. Kui on keskkonna stiimul, siis putuka peas olevad endokriinnäärmed – saatekehad *corpora allata* – sekreteerivad juveniilhormooni. Viimane reguleerib rebupeptiidide sisenemist ootsüüdi pinnal ja stimuleerib rebuvalkude sünteesi ovaaris endas (viimased on identsed rasvkeha rebuvalkudega). Kolmandaks põhjustab juveniilhormoon ekdüsooni sekretsiooni folliikuleis ja tõenäoselt ka mujal kõhurakkudes. Ekdüsooni aktiivne vorm – 20-hüdroksü-ekdüsoon – stimuleerib omakorda rasvkehas rebuvalkude sünteesi. See hormonaalne stimulatsioon on sarnane östradiooli mõjuga amfiibi maksale. Veelgi enam, sarnane on ka mõju isasloomale: ekdüsooni manustamine täiskasvanud isastele põhjustab rebuvalkude sekretsiooni rasvkehas.

Rebuvalgud võetakse munarakku retseptoritega vahendatud endotsütoosi kaudu. Need retseptorid paiknevad ootsüüdi membraanis, põhiliselt selles olevate mikrovillide vahel. Retseptori ja vitellogeniini kompleksid neelatakse sisse ja vitellogeniin vabaneb retseptorist endo-

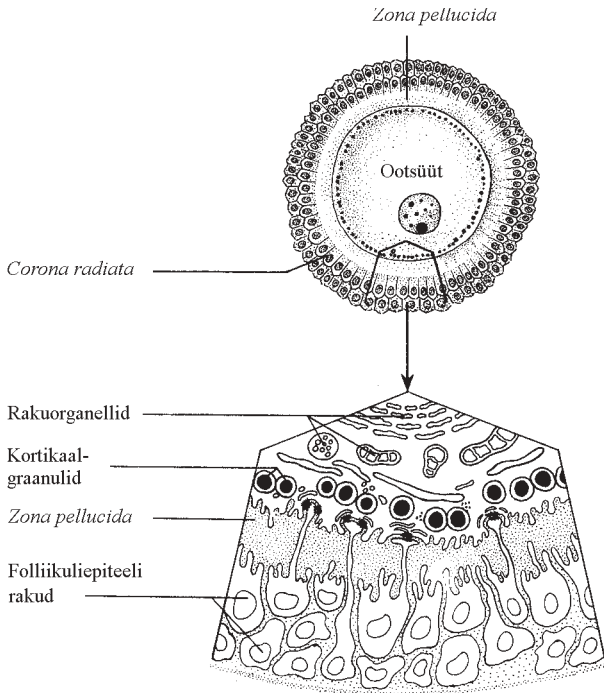


Joonis 15. Imetaja folliikuleepiteeli rakkude hormonaalse regulatsiooni skeem (Gilbert, 1994 järgi). Vt. veel tekstist.

sütootilises vakuoolis. Vakuoolid sulavad teiste endosoomidega ja moodustavad suured vitellogeniiniga täidetud varugraanulid. *Drosophila*'l käivitub vitellogenees keskkonna fotoperioodi pikenemise tõttu. Teisiti on aga sääskedel, kus võtmeregulaatoriks on toit – nimelt imetud

veri. Verd imavad ainult emasloomad. Enne toitumist ei teki sellistel loomadel mingisugust vitellogeniini. Nähtavasti mõni faktor imetud verest stimuleerib sääse ajus juveniilhormooni vabanemise, mis omakorda vallandab vitellogeniini sünteesi rasvkehas.

Follikulaarsel oogeneesil, analoogiliselt nutrimentaarsega, reguleerivad välistegurid sigimisega seotud hormoonide väljutamist. Selleks välisteguriks, mis vallandab vitellogeneesi, võib lindudel olla foto-periood, kuid kaladel hoopis välistemperatuur. Peaaju taalamuses vastu võetud impulsid väliskeskkonnast materialiseeruvad üle hüpofüüsi eessagara. Munasarjas algab ovariaalfolliikuli kasv hüpofüüsi **folliikuleid stimuleeriva hormooni (FSH)** toimel. Sama



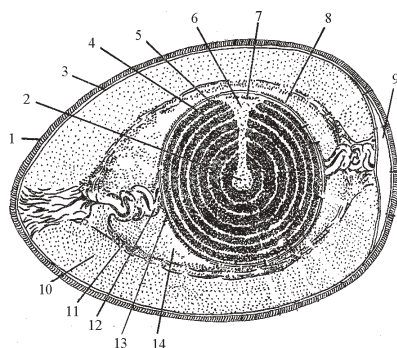
Joonis 16. Munaraku seos folliikulepiteeliga imese tertsaarfolliikuli munakühmus (Schumacher, 1988 järgi parandustega). Pöörake tähelepanu granuloosrakkude jätketele, mis ulatuvad läbi rebukesta ja moodustavad munaraku pinnal kontakte.

gonadotropiin põhjustab folliikulieriteelise omakorda hormonaalse aktiivsuse. Folliikulieriteeli rakud sünteesivad **östrogeene**, mis stimuleerivad maksarakkudes vitellogeniini sünteesi. Vitellogeniin suunatakse vereringesse ja vereringest pääseb vitellogeniin otsüüti jälle seotuna retseptoritega nagu nutrimentaarse oogeneesi puhul.

Lisaks FSH-le toimib oogeneesis teine hüpofüüsi gonadotropiin: **luteiniseeriv hormoon (LH)**. Luteiniseeriva hormooni kontsentratsiooni kiire suurenemine veres põhjustab Graafi põiekeses kokkutõmbeid ja põiekesse lõhkemise, mille tagajärjel munarakk läbib ovaari kestad ja paisatakse munasarjast välja.

Munarakkude küpsemisperiood

Munaraku küpsemist reguleerivad mitmesugused tegurid, nagu hormoonid, munaraku tsütoplasma faktorid, ka isassuguraku penetratsioon. Viimane näib olevat enamusel loomaliikidel, v.a. okasnahksed, küpsemise vajalikuks eeltingimuseks (joonis 13). Oogeneesis nagu spermatogeneesiski on küpsemise põhisündmuseks meiosis, kuid võrreldes seemneraku arenemisega on siiski hulk iseärasusi. Nimelt on otsüüdi jagunemine küpsemisel ebavõrdne. Tulevane muna saab endale peaaegu kogu ooplasmata ja kolmele **reduktsioon-** ehk **polaar-**



Joonis 17. Kodukana muna ehituse skeem (Aleksandrovskaja, 1987 järgi muudatustega). 1 – munakoor; 2 – rebutael (*latebra*); 3 – koorealune kest; 4 – valge rebu; 5 – kollane rebu; 6 – Panderi tum; 7 – iduketas; 8 – rebukest; 9 – õhuruum; 10, 11, 13, 14 – valgukesta kihid; 12 – munakeerised ehk rebuväädid (*chalazae*).

kehakesele jäetakse tuumade ümber minimaalne hulk tsütoplasmat. Varuainete koondamine vaid ühele tütarrakule – munarakule – suurendab autonoomiat organismi esimestes arenguastmetes.

Xenopus'e oogeneesis kestab meioosi leptoteerne faas ainult 3-7 päeva, sügoteen 5-9 päeva, pahhüteen umbes kolm nädalat, diploteerne staadium võib aga kesta aastaid. Tuletame veel kord meelde, et põhiline vitellogenees toimub meioosi diploteenses faasis. Vaadeldaval kahepaiksel pääseb meioos diploteensest faasist edasi juhul, kui folliikulieriteeli rakud on sünteesinud gonadotropiinide mõjul progesterooni. Pärast progesterooni stimulatsiooni laguneb ootsüüdi tuumakate kuue tunni jooksul, tuumakesed desintegreeruvad, kromosoomid spiraliseeruvad ja rändavad animaalsele poolusele, kus algab jagunemine.

Kuidas progesteroon võimaldab munal vabaneda soikeseisundist ja taastada meioos? Selle protsessi aluseks on **küpsemist vallandav tegur (MPF)**, mis on vastutav meioosi taastamise eest. MPFi aktiivsus on tsükliiline, olles kõrge raku jagunemisel ja mittedetekteeritav interfaasis (joonis 14). MPF on proteiinkinaas, mis sisaldab ensümaatilise alüksuse – tsükliini. Tõenäoliselt on MPF ootsüüdis kogu aeg olemas ja progesteroon vaid konverteerib preMPF-kompleksi aktiivseks, tõenäoliselt aktiveerides erilise cdc25-fosfataasi. Progesterooni signaal on vahendatud rakus c-mos-valguga. Ootsüüdis on pidevalt olemas maternaalse ehk emapoolse c-mos-geeni mRNA. Progesterooni mõjul transleeritakse nimetatud mRNA-l fosfoproteiid pp39mos. Selline valk on leitav ainult ootsüüdi küpsemise ajal ja ta lammutatakse kiiresti fertillisatsioonil. Sama pp39mos moodustab koos teise valguga (tsükliinist sõltuva kinaas-2-ga) **tsütostaatilise faktori**, mis blokeerib raku-tsükli metafaasis. Ootsüüdi tsütoplasmat kasutades on võimalik arreteerida metafaasis ükskõik millise raku jagunemine.

Kuidas viljastumisel on võimalik, et ootsüt lähleb II metafaasist edasi ja lõpetab meioosi haploidse gameedina? Varem arvati, et viljastumisel inaktiveeritakse pp39mos ja viimase puudusel tsükliin MPFis degradeeritakse. Kuid viimased uurimused näitavad, et need kaks protsessi ei sõltu üksteisest. Tsükliin degradeeritakse ehk lammutatakse kaltsiumiooni sissetungimise järel fertillisatsioonil. Alles seejärel degradeeritakse pp39mos, kuna aktiveerub Ca²⁺-sõltuv proteaas kalpain II.

Vaadeldava protsessi detailid ei ole praegusel ajal veel selged.

Imetaja munaraku küpsemise regulatsioon

FSH toimel hakkab kasvama arvukalt ovariaalfolliikuleid, kuid vaid üksikud või ainult üks jõuavad neist küpsemiseni. Selgub, et see folliikul, mis vastuseks FSH stiimulile suudab kõige rohkem östrogeeni toota, on suuteline jätkama meioosi (joonis 15). FSH-d sidunud folliikulid mitte ainult ei kasva, vaid produtseerivad ka LH-retseptoreid. LH sidumine põhjustab omakorda östrogeeni sünteesi. Östrogeenil on kahesugune toime. Ühelt poolt pidurdab östrogeen FSH produktsiooni hüpofüüsis. Teiselt poolt suurendab östrogeen oma folliikulis FSH-retseptorite arvu, mis võimaldab olemasoleva FSH intensiivsemat sidumist. Sellises konkurentsisis jääb peale folliikul, kus östrogeeni süntees oli kõige kiirem. Teised folliikulid on neis tingimustes määratud hukkamisele.

Nagu juba korduvalt rõhutatud, on ootsüüt kasvamisperioodil meioosi profaasi diploteenis, mida oogeneesi puhul on nimetatud ka **diktüaadiks**. Meioosi pikaaajaline inhibeerimine diktüaadis on folliikuliepiteeli funktsioon. Folliikulist vabastatud ootsüüdid teevad läbi küpsemise isegi ilma hormoonide mõjuta, kuid folliikulisse sulundatud munarakkudel on küpsemist raske esile kutsuda. Folliikuliepiteeli tähtsat osa munaraku arengu regulatsioonis rõhutavad vaatlused nende omavaheelistest tihedatest kontaktidest. On selgunud, et granulooskoe rakud sirutavad oma jätked läbi rebukesta munaraku pinnale, kus moodustavad piluliiduseid (joonis 16). Läbi piluliiduste kanduvad folliikuliepiteelist munarakku sellised madalamolekulaarsed regulaatorid nagu cAMP. Selle ühendi kõrgeid kontsentratsioonid säilitavad meioosi aresti, põhjustades ootsüüdis teatud valkude fosforüülmise. LH toimel folliikuliepiteeli kommunikatsioon munarakuga ja cAMP transport pidurdatakse ning viimase kontsentratsioon munarakus langeb. Selle hüpoteesiga on seletatav, miks ootsüüdid küpsevad spontaanselt pärast vabastamist ovariaalfolliikulist.