**БИОТЕХНОЛОГИЯ**

УДК: 574/577

DOI: 10.24418/KIPZ.2019.6.0005

ЗНАЧЕНИЕ И МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ ДИАПАУЗЫ**Е.С. Щукина, И.С. Кашапова, Д.В. Попов, Г.Ю. Косовский**

ФГБНУ НИИПЗК

Электронный адрес: niipzk@mail.ru

Диапауза - это прекращение или замедление роста эмбриона на стадии бластоцисты. Наблюдается у некоторых видов животных, в том числе, млекопитающих.

В обзоре подробно рассмотрено понятие диапаузы, представлено биологическое значение этого процесса, а также охарактеризованы основные механизмы, опосредующие предимплантационную задержку эмбрионального развития некоторых видов млекопитающих.

Ключевые слова: диапауза, бластоциста, реактивация, сигнальная трансдукция, эмбриональные стволовые клетки.

На сегодняшний день не определены молекулярные маркеры для определения бластоцист в диапаузе. Первые признаки реактивации в бластоцисте – это возобновление митотической, пролиферативной активности клеток и ускорение обмена веществ. Далее следуют первые признаки экспансии эмбрионов и имплантация. У мыши события реактивации происходят быстро, в течение 4–16 часов [102]. Напротив, у норки и таммарского валлаби события реактивации происходят в течении длительного периода времени - первые признаки возобновления клеточного цикла возникают спустя 3–4 дня после начала процесса реактивации. Повышение уровня синтеза белка и метаболизма на начальных стадиях реактивации происходит медленно с быстрым увеличением на поздних стадиях реактивации [30, 103, 104]. Так, имплантация у норки происходит лишь на 13 день после начала реактивации бластоцисты, у валлаби – на 18 день [29, 91, 100, 104, 105].

Эмбриональная диапауза – период эмбриональной задержки на стадии бластоцисты – процесс, происходящий у 130 видов млекопитающих, от медведей и барсуков до мышей и сумчатых и даже у людей [73]. Во время диапаузы снижается клеточная пролиферация и обмен веществ. Тем не менее, это не несет никаких негативных последствий для беременности. Диапаузу опосредует ряд факторов, в том числе доступность кормовых ресурсов, температура и

влажность воздуха, длина фотопериода и процессы, обеспечивающие лактацию.

Принято различать пять различных состояний бластоцисты в эмбриональной диапаузе [92]:

- отсутствие роста: происходит в однослойных бластоцистах с зоной пеллюцида (например, кенгуру)
- отсутствие роста: происходит в однослойных бластоцистах без зоны пеллюцида (например, мыши и крысы)
- замедленный рост: встречается в однослойных бластоцистах с зоной пеллюцида (например, куницы, медведи, тюлени)
- некоторый медленный рост: происходит в биламинарных бластоцистах без зоны пеллюцида (например, косуля)
- имплантированные, но недифференцированные (например, летучие мыши).

Эмбриональная диапауза впервые описана у косули *Capreolus capreolus* – несмотря на то, что наступление репродуктивного периода (охоты) для этого вида характерно в августе, в матке эмбрион выявлен лишь в январе [127]. После спаривания следовал период покоя [10], в течение которого отмечалась практически полная остановка роста и развития эмбриона. Это явление получило название эмбриональной диапаузы. Интересно, что косуля остается единственным парнокопытным (копытное млекопитающее) видом, отличающимся наличием периода

эмбриональной диапаузы, хотя по некоторым неподтвержденным данным, эмбриональная диапауза характерна также для оленей (*Elaphurus davidianus*) [13].

Одной из основных функций диапаузы является контроль времени рождения, независимо от периода спаривания и продолжительности беременности, с целью минимизации возможности воздействия неблагоприятных условий окружающей среды на рождённое потомство. Таким образом, длина светового дня, характер кормовой базы, температура воздуха и количество осадков влияют на течение диапаузы и ее продолжительность, следовательно, для многих млекопитающих репродуктивный период синхронизируется с одним из этих экологических событий.

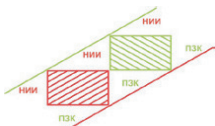
Диапауза возникает на стадии бластоцисты, которая является конечной фазой относительной автономии в эмбриональном развитии. В дальнейшем развитие за пределами этой стадии требует более тесного контакта с маткой, зависит от её повышенной секреторной активности, регулируемой стероидными гормонами яичников. Во время диапаузы в бластоцисте либо полностью останавливается клеточное деление, либо пролиферация клеток происходит крайне медленно [32, 33, 92, 93]. В этот период сохраняется зона пеллюцида – защитный слой гликопротеинов, окружающий бластоцисту [34, 75, 93, 94, 100].

Диапауза выявлена более, чем у 130 видов млекопитающих – от муравьеда до песчанки и белого медведя. Несмотря на то, что прямых доказательств нет, предполагается, что диапауза также может быть характерна для некоторых приматов, в том числе, человека [88, 112]. С точки зрения обеспечения рождения потомства в благоприятный для этого период, наличие периода эмбриональной диапаузы позволяет самке производить максимальное количество потомства в данном сезоне путем синхронизации родов с условиями окружающей среды, благоприятными для выживания потомства. Эмбриональная диапауза у млекопитающих может быть лактационной, когда задержка развития бластоцисты индуцируется по необходимости, и сезонная, которая наблюдается при каждой беременности [63].

Лактационная эмбриональная диапауза

наиболее изучена у мышей *Mus musculus*. Если спаривание мыши происходит в послеродовом эструсе, имплантация задерживается из-за сосания молодняком молока, что приводит к повышению уровня пролактина в крови и уменьшает секрецию эстрогена на 3 день беременности с последующей задержкой имплантации [66, 87]. Эмбриональная диапауза у грызунов может длиться от одного дня до нескольких недель в зависимости от размера гнезда [66, 86, 120, 121]. Выход из диапаузы происходит по завершении лактационного периода или в случае разлуки самки с подсосным потомством, что приводит к всплеску эстрогена (Рис. 1) [87]. Экспериментально диапауза может быть прекращена единовременной инъекцией эстрадиола [70, 87, 126]. Выработку пролактина под влиянием сосания можно ингибировать инъекциями агониста дофамина-бромокриптина, который снижает высвобождение пролактина, с последующей реактивацией бластоцисты [37]. Эмбриональная диапауза также может быть экспериментально индуцирована у мышей овариэктомией на третий день, до всплеска эстрогена, и поддерживаться ежедневными инъекциями прогестерона. Можно также применять инъекции эстрогена на второй и третий дни беременности [84, 126].

Сезонная диапауза преимущественно преобладает среди плотоядных, включая всех медвежьих (Ursidae), а также скунсовых (Mephitidae), куных (Mustelidae), ушастых тюленей (Otariidae) и настоящих тюленей (Phocidae). Известно, что у большинства сезонно размножающихся млекопитающих, эмбриональная диапауза контролируется сезонными изменениями фотопериода. Тем не менее, сезонный триггер для реактивации бластоцисты видоспецифичен (Рис. 2). Сезонная диапауза наиболее изучена у американской норки (*Neovison vison*) [75]. Период гона у норок продолжается от начала февраля до конца марта. Бластоциста входит в состояние диапаузы из-за всё ещё высокого уровня ночного мелатонина, в связи с чем уровень пролактина остается недостаточным для поддержания нормального течения беременности. Независимо от даты спаривания, реактивация диапаузы стимулируется увеличением фотопериода после весеннего равноденствия (21–22 марта, северное полушарие), в результате увеличения циркули-



рующего пролактина и последующего повышения синтеза прогестерона в яичниках (рис. 1) [76, 77]. При этом выход бластоцисты из диапаузы у норок в экспериментальных условиях опосредуется только пролактином [77, 108].

В отличие от приведенных выше примеров, диапауза у таммарского валлаби и филандера Евгении (*Macropus eugenii*), в зависимости от времени года, может быть и лактационной и сезонной (рис. 1 и 2). Оба типа диапаузы у этих видов поддерживаются низкими уровнями прогестерона [74]. Таммарские валлаби рожают одного альтрициального потомка в конце января (в южном полушарии), который завершает своё развитие в сумке до конца сентября. В течение нескольких часов после родов самка испытывает послеродовой эструс, происходит оплодотворение. Бластоциста входит в лактационную диапаузу, поддерживаемую высоким уровнем пролактина во время лактации. В случае гибели потомства в репродуктивный период секре-

ция пролактина ингибируется, и последующий всплеск прогестерона активирует бластоцисту из диапаузы (рис. 1) [45, 46, 99]. Однако, если детёныш гибнет по истечении репродуктивного периода, то бластоциста остаётся в состоянии сезонной диапаузы до наступления летнего солнцестояния (21–22 декабря, южное полушарие), когда, в отличие от норки, повышение уровня ночного мелатонина приводит к увеличенной секреции пролактина и реактивации бластоцисты [44]. Таким образом, эмбрион таммарского валлаби может оставаться в диапаузе в течение 11 месяцев (рис. 2). Таким образом, повышается вероятность, что потомство будет производиться каждый год и выходить из сумки в оптимальное для выживания время – весной. В экспериментальных условиях реактивация бластоцисты у этого вида может быть индуцирована экзогенным прогестероном от лактационной диапаузы и мелатонином – от сезонной [89].

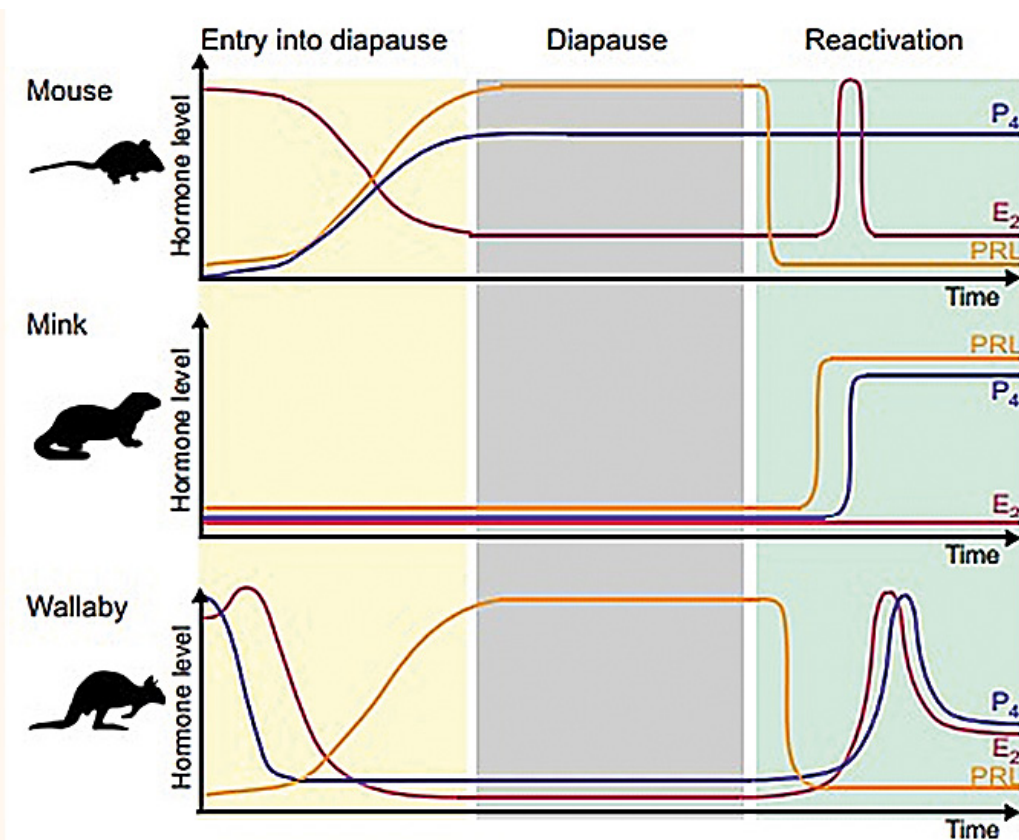


Рисунок 1. Гормональные изменения при диапаузе. Гормональные профили мыши, норки и таммарского валлаби при входе в диапаузу, во время диапаузы и после реактивации бластоцисты. Три этапа течения диапаузы характеризуются различными уровнями гормонов (за исключением эстрадиола у норки), также имеются значительные межвидовые различия. Синие линии указывают значения прогестерона (P4), красные - эстрадиола (E2), оранжевые - пролактина (PRL).

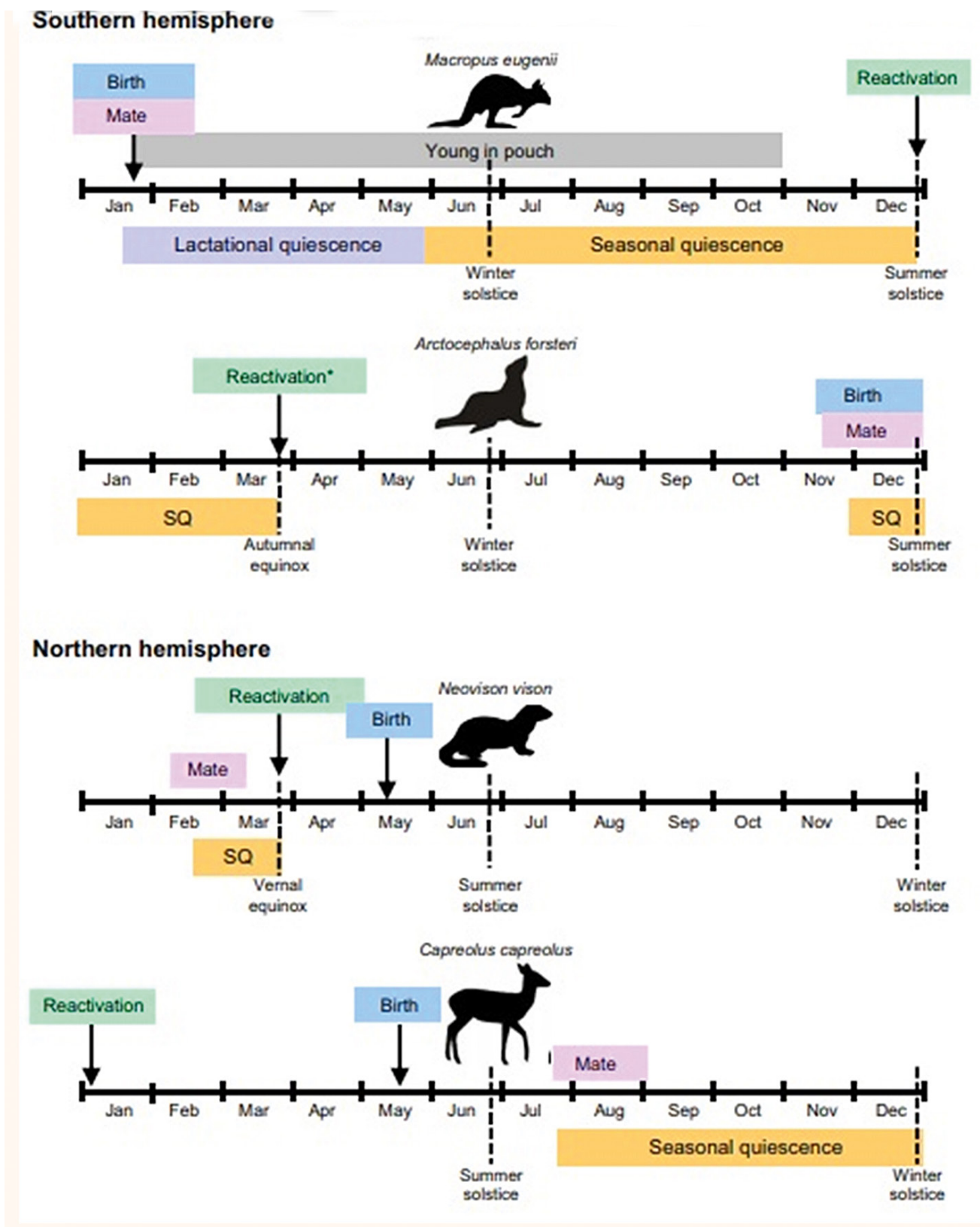
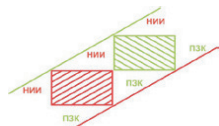


Рисунок 2. Лактационная и сезонная диапауза. Сравнение годовых циклов сезонной диапаузы млекопитающих южного и северного полушарий на примере таммарского валлаби (*Macropus eugenii*), новозеландского морского котика (*Arctocephalus forsteri*), норки (*Neovison vison*) и косули (*Capreolus capreolus*). Важно, что прогнозируемая реактивация бластоцисты у морского котика (отмечено звездочкой), является ответом на осеннее равноденствие. Продолжительность и сроки диапаузы сильно различаются. SQ – сезонный покой.



Так, гормональный контроль диапаузы описан для многих видов. Исключением является косуля. Предполагается, что диапауза у косули является сезонной, нет доказательств того, что пролактин, прогестерон или эстроген индуцируют реактивацию бластоцисты [1, 48, 55]. Уровни всех трёх гормонов остаются постоянными в течение всего периода диапаузы и при ее реактивации, однако при развитии эмбриона до стадии бластоцисты наблюдается значительное увеличение эстрогена [55], при этом введение эстрадиола *in vivo* не влияет на развитие бластоцисты [1]. Таким образом, проксимальный сигнал для реактивации бластоцисты от диапаузы может быть опосредован не циркулирующими в крови гормонами, а секретирован как маткой, так и самой бластоцистой [55].

Молекулярные механизмы, обеспечивающие диапаузу, удобнее всего рассматривать на примере трех неродственных видов – мыши, норке и таммарском валлаби (рис. 3). Бластоцисты валлаби и норки во время диапаузы имеют зону пеллюцида и не имплантируются еще в течение нескольких дней после реактивации [34, 75, 91, 100]. После оплодотворения в матке начинается секреция специфических факторов, роль которых мало изучена. Предполагается, что посредством этих факторов обеспечивается прямая связь между эндометрием и бластоцистой. Наблюдается уменьшение активности маточной железы до наступления диапаузы у валлаби [54], что соответствует снижению концентрации общего белка и объема его секреции в течение диапаузы [90, 91]. Секреция некоторых специфических белков также ослабевает по мере того, как бластоцисты мыши вступают в диапаузу, и усиливается при ее реактивации [122], что также встречается у валлаби [91] и косули [1]. Выявлено, что множественные белки, молекулярная масса которых низка, в том числе, протеазы, гормоны, цитокины, факторы роста и транскрипционные факторы, регулируют эмбриональное развитие и, следовательно, наступление и прекращение диапаузы. Аминокислоты в маточных секретах также влияют на развитие эмбрионов [38, 124], хотя специфические ответы на отдельные аминокислоты не определены.

Эндометрий матки млекопитающих секретирует цитокины и факторы роста, которые влияют на развитие предимплантационного эмбриона [20]. Вероятно, некоторые из них также контролируют течение диапаузы. Эти факторы включают эпидермальные факторы роста и рецепторы (EGF, HB-EGF (или HBEGF) и ERBB4), фосфолипидный PAF (ранее известный как фактор активации тромбоцитов), эндотелиальный фактор роста сосудов (VEGF) и лейкоз ингибирующий фактор (LIF). Многие из этих факторов присутствуют в бластоцисте, и их повышение уровня их экспрессии совпадает с началом реактивацией бластоцисты.

Многие представители семейства эпидермальных факторов роста (EGF) экспрессируются в эндометрии и в эмбрионе мыши, как в период преимплантации, так и при реактивации от диапаузы [31, 42]. Семейство EGF состоит из 11 известных лигандов и четырех ERB-b2 рецепторов тирозинкиназы (EGFR, также известный как ErbB1 и ERBB2-4) [111]. Вышеописанные изменения эндометрия при реактивации проявляются усилением активности лиганда EGF, гепарин связыванием EGF как фактором роста (HB-EGF) за 6–7 часов до имплантации [27]. Однако единственная известная функция внутриматочного HB-EGF заключается в координации имплантации путём его связывания с ERBB4 на бластоцисте [23]. Следует отметить, что первым признаком выхода из диапаузы является обнаружение в эндометрии HB-EGF (Heparin-binding) рядом с бластоцистой, за несколько часов до начала имплантации [28]. Известно, что эндометриальный HB-EGF участвует в связывании с рецептором ERBB4 на бластоцисте для координации процесса имплантации у мыши и человека [24, 56, 82, 83, 118, 125], при этом, его роль в диапаузе неизвестна. ERBB4 также присутствует в эндометрии мыши при реактивации, HB-EGF является единственным лигандом семейства EGF, экспрессия которого при выходе из диапаузы бластоцисты мыши, валлаби и норки значительно повышена [36, 61]. Экспрессия мРНК HBEGF и EGFR обнаружена в матке норки на всех стадиях эмбриональной диапаузы. Достоверных различий показателей в экспрессии гена между стадиями не выявлено. Во время диапаузы

наблюдается активность цитоплазматического ERBB4, которая существенно усиливается при реактивации бластоцисты (рис. 3). В условиях пониженной сигнализации, опосредуемой EGF и повышением активности факторов остановки клеточного цикла, таких как FOXO и CDKN1A, обеспечивается механизм, поддерживающий неподвижность клеток в бластоцисте в состоянии диапаузы [65]. Кроме того, известно, что растворимая форма эпидермального

фактора роста (EGFR), которая также может связываться с HB-EGF и другими митогенами, индуцированными HDGF, присутствует в маточной жидкости валлаби [67]. Сигнальная трансдукция факторов семейства EGF эндометрием и эмбрионом, вероятно, является ключевым звеном в реактивации диапаузы. Следует также отметить, что для семейства EGF характерна высокая степень функциональной избыточности [15, 18, 41, 95, 110].

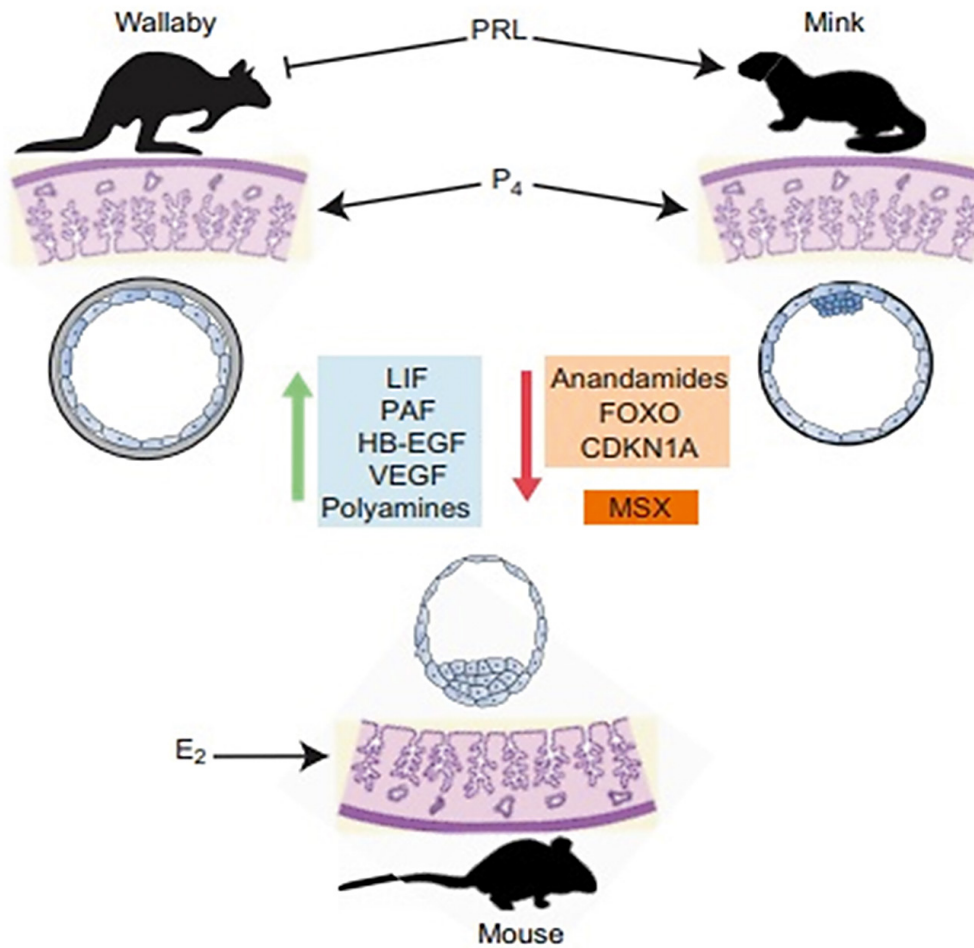
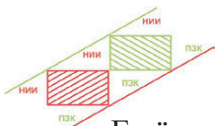


Рисунок 3. Передача сигналов секреторных факторов матки и эмбриона во время диапаузы. Гормоны PRL, P4 и E2 у валлаби, мыши и норки во время реактивации диапаузы и взаимодействия между маткой и бластоцистой. Гормоны, необходимые для индукции реактивации бластоцисты для каждого из этих видов и их влияние различны. Бластоцисты и валлаби, и норки отвечают на воздействие пролактина, но для норки это воздействие стимулирующее, а для валлаби – ингибирующее. Напротив, пролактин не оказывает прямого воздействия на бластоцисты мыши, при этом его концентрация велика в период лактации. Для реактивации бластоцист у самок всех трёх видов необходима определённая концентрация прогестерона в крови, при этом основным стимулятором реактивации у мышей является эстрадиол, который на бластоцисты норки и валлаби напрямую не влияет.

PRL - пролактин; *P4* - прогестерон; *E2*, эстрадиол. Цитокины и факторы роста, которые активны при выходе из диапаузы, обозначены зеленой стрелкой. Факторы со сниженной экспрессией отмечены красной стрелкой. Экспрессия генов гомеобокса мышечного сегмента (*MSX*) в матке до начала реактивации также приостановлена.



Ещё один фактор, играющий важную роль в регуляции имплантации и, возможно, диапаузы – цитокин VEGF, гепарин-связывающим гомодимерным гликопротеином и специфичный митоген для эндотелиальных клеток. Локальная экспрессия VEGF опосредует взаимодействия между маткой и эмбрионом и способствует имплантации [41]. В маточном секрете мышей выявлены изоформы VEGF поддерживающие пролиферацию клеток бластоцисты [8]. VEGF также активируется в эндометрии норки в момент реактивации диапаузы и стимулирует эндотелиальную пролиферацию и васкуляризацию в матке [63, 64]. IL-1 регулирует рост клеток и ангиогенез, активизируя VEGF-KDR пути [2, 113].

LIF является членом семейства провоспалительных цитокинов интерлейкина-6 (IL-6), который также играет роль в регуляции имплантации бластоцисты и участвует в диапаузе у мышей. После выделения LIF в просвет матки, этот цитокин связывается с гетеродимерным LIF трансмембранным рецепторным комплексом, состоящим из рецептора LIF (LIFR) и gp130 (IL6ST) [79], что приводит к активации путей JAK-STAT3 ERK. Необходимый для имплантации LIF секретируется в эндометриальном железистом эпителии на 4-й день беременности и непосредственно перед имплантацией [107]. LIF индуцируется в маточных железах под действием эстрогена и TP53 (p53) [96]. При отсутствии LIF бластоцисты входят в диапаузу, тогда как без gp130 они не выживают [49, 96]. Концентрации LIF во время диапаузы в эндометрии очень малы, но значительно повышаются при реактивации у разных видов, в том числе у мышей, норки, западного пятнистого скунса, малого скунса и валлаби [6, 43, 47, 85, 102, 107]. У скунса индукция LIFR (LIFR β) маткой усиливается, когда бластоцисты возобновляют своё развитие, что, по-видимому, происходит под стимулирующим контролем пролактина [85]. Поскольку экспрессия LIF у мышей находится под контролем эстрогена, для стимуляции реактивации поддерживать его должный уровень возможно инъекциями эстрогена [22]. LIF влияет на экспрессию генов в эндометрии матки путем подавления их экспрессии в первый час после инъекции, и положительно влияет, в том числе, на гены Sox, Klf, Hes, Hey, Nox факторы транскрипции,

а также гены гомеобокса мышечного сегмента (MSX) [96]. LIF также поддерживает плюрипотентность клеток эпибласта бластоцисты и стволовых клеток.

Инсулиноподобный фактор роста (IGF), тромбоцитарный фактор роста (PDGF), фактор роста фибробластов (FGF), трансформирующий ростовой фактор β (TGF β), интерлейкин 1 β (IL1 β), костный морфогенетический белок 2 (BMP2) и внутриклеточный сигнальный путь (WNT) опосредуют имплантацию и также, возможно, обеспечивают регуляцию диапаузы [20]. Выявлены 123 гена, которые дифференциально экспрессируются в матке норки в период диапаузы [59]. Примерно 50% из них являются секреторными факторами и вовлечены в клеточную пролиферацию, гомеостаз, поддержание структуры белков, транспорт электронов, ремоделирование хроматина и тканей и врожденный иммунный ответ [59]. Например, секреция гликопротеин SPARC (secreted protein acidic and cysteine-rich), экспрессия HMGN1 (high mobility group nucleosome binding domain 1) и фактора ремоделирования хроматина при реактивации бластоцисты в эпителии матки повышаются. В маточном секрете валлаби выявлен 21% секреторных белков, включая митоген гепарин-связывающий эпидермальный фактор роста и растворимые рецепторы эпидермального фактора роста [67].

Известны два ключевых консервативных фактора транскрипции, присутствующих у норки, мыши и валлаби во время диапаузы, которые участвуют в контроле диапаузы, кодируют гены гомеобокса мышечного сегмента MSX1 и MSX2, регуляция экспрессии которых регулируется LIF [19, 21, 34, 94]. MSX1 является регулятором факторов транскрипции при имплантации и способствует выходу бластоцисты из диапаузы [21, 26]. Недостаточная концентрация MSX1 у мышей влияет на восприимчивость матки к нарушению передачи сигналов в пути Wnt5a, тем самым поддерживая пролиферацию стромы и просветного эпителия [21, 26, 78].

Известно, что во время диапаузы наблюдается пониженная активность ферментов, участвующих в синтезе полиаминов, как в бластоцисте норки, так и в матке [35, 59]. Полиамины синтезируются из орнитина, аргинина, пролина и метионина, их экспрессия строго контролируется

ется, прежде всего, ограничением скорости ферментации орнитина декарбоксилазой 1 (ODC1) [4]. У норки и мышей, ингибирование ODC1 *in vivo* (посредством DL- α -диформетилорнитина или DFMO) индуцирует наступление диапаузы [33, 60]. Кроме того, уровень полиамина путресцина в норке повышается при реактивации [35, 60]. Тем не менее, DFMO не оказывает влияния на поддержание бластоцисты в состоянии диапаузы *in vitro* [33]. В других типах клеток, полиамины участвуют во множестве клеточных процессов включая метаболизм, контроль клеточного цикла и апоптоз, связываются и взаимодействуют с нуклеиновыми кислотами, белками и фосфолипидами [51, 58]. Предполагается, что полиамины участвуют в контроле пролиферации клеток [52].

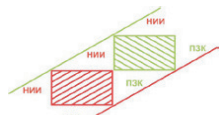
Эндоканнабиноид анандамид участвует в регуляции метаболизма и передаче сигналов кальция во время диапаузы. Уровни анандамида играют важную роль в реактивации бластоцисты от эмбриональной диапаузы [117]. Низкий уровень анандамида может активировать бластоцисту через путь MAPK, в то время как высокий, но, тем не менее, физиологически допустимый уровень не активирует путь MAPK и бластоцисты остаются в диапаузе [117]. Кроме того, высокий уровень анандамида ингибирует передачу сигналов Ca^{2+} , вследствие чего можно предположить, что анандамид может также регулировать уровень LIF [65, 117]. Ряд генов, участвующих в кальциевом сигнальном пути, экспрессируются в реактивированном эмбрионе [40]. Известно, что ингибирование Ca^{2+} переходных процессов в ранних эмбрионах приводит к задержке/торможению развития или пролиферации клеток [3, 106]. Более того, активация передачи сигналов кальция усиливает экспрессию аргиназы, которая является ферментом, участвующим в синтезе полиаминов и онкогенного миелоцитоматоза (MYC) – ещё одного фактора, участвующего в реактивации бластоцисты [3]. Экспрессия CB1 (CNR1), каннабиноидного рецептора, с которым связывается анандамид, также активируется в трофэктодерме бластоцисты во время диапаузы и быстро подавляется при реактивации. Следовательно, высокий уровень анандамида может действовать как ингибирующий фактор развития бластоцисты и поддержи-

вать диапаузу посредством ингибирования пути MAPK и передачи сигналов Ca^{2+} .

Во время диапаузы отмечается значительное снижение экспрессии генов, контролирующей репликацию. Namatani исследовал уровни экспрессии 2 000 генов во время диапаузы у мышей – лишь 80 из них обладали явно выраженной экспрессией, при этом, при реактивации бластоцисты высокими уровнями экспрессии характеризуются 149 генов [40]. Также выявлено, что из 229 генов, обеспечивающих функции передачи сигналов в клетке, адгезионные контакты и метаболические пути, аналогичным образом, менее 5% генов высоко экспрессировались во время диапаузы у норки и 91 ген – при реактивации бластоцисты от диапаузы [35]. Идентифицированы более 2 000 белков, дифференцированно регулирующих многочисленные процессы биосинтеза, гликолиза, обмена веществ и ремоделирования хроматина [37].

В течение эмбриональной диапаузы в бластоцисте валлаби поддерживается гликолитический метаболизм, но деления и дифференцировки клеток не происходит. Считается, что бластоциста приостанавливается в развитии в фазе G1 клеточного цикла [109]. При этом, отличия G0 и G1 достоверно не определены [25]. Oki et al. разработали метод чёткого определения фазы покоя G0 клеточного цикла с использованием mVenus и мутантной формы из p27 (также известный как CDKN1B), в том числе, для стволовых клеток [81].

Снижение уровней секреторных белков в матке во время диапаузы может свидетельствовать о повышенной активности факторов, экспрессируемых в бластоцисте и поддерживающих базальный метаболизм, биосинтез и плюрипотентность клеток в диапаузе [11]. К таким факторам относят, в том числе, факторы транскрипции (FOXO) и компоненты циклин-зависимого ингибитора киназы 1A (CDKN1A, также известный как p21) [33, 40]. Белки FOXO также опосредуют диапаузу у беспозвоночных и играют решающую роль в поддержании покоя гемопоэтических, нервных стволовых клеток, а также плюрипотентности эмбриональных стволовых клеток (ESC) у человека и мыши [67, 113]. Кроме того, многие транскрипционные мишени FOXO эволюционно законсервированы от беспозво-



ночных до человека и включают гены, участвующие в метаболизме, сигнальной трансдукции и регуляции транскрипции [119]. Активированная форма FOXO выявлена в диапаузе у мышей, валлаби и норка, при этом, большинство их функций, осуществляемых в диапаузе, до сих пор не описаны [33]. Пути сигнальной трансдукции, контролирующей течение диапаузы, включают эволюционно древние консервативные гены, которые также могут быть вовлечены в этот процесс у млекопитающих. Одним из них является фактор роста-PI3K / AKT1- RAC- альфа серин/треониновая протеинкиназа. DAF-16 путь у амёбы *Caenorhabditis elegans* эволюционно высоко консервативен. Гомологом DAF-16 у млекопитающих является Forkhead box protein (FOXO), семейство факторов транскрипции, которое включает: foxo1 (ранее известный как FKHR и FOXO1A), FOXO3 (ранее известный как FKHL1 и Foxo3a), FOXO4 (также известный как AFX1) и FOXO6 [134]. Представители семейства FOXO могут быть непосредственно фосфорилированы AKT1 в ядре, где впоследствии ингибируется их способность индуцировать транскрипцию генов-мишеней с помощью секвестрации их в цитоплазме [7, 16]. При отсутствии фактора роста PI3K/AKT1, FOXO проявляют активную экспрессию [9].

Белок CDKN1A также может играть роль в индукции митоза и его торможении во время диапаузы бластоцисты в фазе G0 или G1 клеточного цикла [63]. Известно, что секреторные белки CDKN1A индуцируют задержку бластоцисты в G0 и присутствуют в маточной жидкости валлаби во время диапаузы [69]. Выявлены 45 типов микроРНК, задействованных в регуляции эмбриональной диапаузы у мыши, 38 из которых подавляются при реактивации бластоцисты [62]. Пять из девяти членов семейства микроРНК let-7, которые регулируют пролиферацию клеток и задерживают имплантацию, также подавляются при реактивации [39, 62].

Феномен эмбриональной диапаузы у мыши может быть связан с предрасположенностью этого вида к деривации ESC под LIF-зависимые условия [49, 60, 79]. Транскриптомы самообновления ESC и диапаузирующих бластоцист во многом схожи [11, 14, 53]. Известно, что факторы сигнальной трансдукции MYC и

mTOR также являются регуляторами диапаузы у мыши [17, 98]. Отсутствие того или иного фактора приводит к снижению синтеза белков *de novo* и транскрипции белков репрессии, при этом, такое ингибирование аналогично происходит в ESC мыши и приводит к появлению транскриптомного профиля этого типа клеток, схожего с таковыми у диапаузирующих бластоцист. Интересно, что при ингибировании MYC в ESCs требуется около 96 часов для полного подавления пролиферации клеток, равно, как и в бластоцистах при диапаузе [70, 103]. Однако ингибирование ни MYC, ни mTOR не оказывает влияние на плюрипотентность ESC [17, 98]. Кроме того, ингибирование mTOR повышает выживаемость бластоцисты *in vitro* в течение 9–12 дней, но только в случае, если ингибированию подвержены оба комплекса mTOR (TORC1 и TORC2). Аналогично, в течение нескольких недель после ингибирования mTOR массовой гибели ESC не наблюдается. При этом, ингибирование MYC индуцирует гибель ESC [17].

При реактивации бластоцисты в ней экспрессируются гены, кодирующие интерлейкин 1 (IL1), который способен модулировать чувствительность клеток эндометрия [12] и HB-EGF [40, 61]. Для бластоцисты в диапаузе характерны такие процессы, как аутофагия – механизм, с помощью которого метаболические потребности удовлетворяются путём переработки зародышем собственных клеток до жизненно важных химических производных [57]. Жизнеспособность бластоцист значительно снижается при культивировании с ингибитором аутофагии [17]. Реактивация бластоцисты мыши сопровождается активацией митохондриальной эндосомо-лизосомной системы [37]. Тем не менее, диапауза у кенгуру, обычно длящаяся 11 месяцев, может быть продолжена в период до двух лет [114], следовательно, аутофагия в такие длительные периоды, по крайней мере у этого вида, не активна [116].

Предполагается, что ранее феномен диапаузы распространялся на большее количество видов, что подтверждает эксперимент по пересадке псевдобеременным мышам бластоцист овцы, диапауза которых не выявлена. Вследствие трансплантации мышам у бластоцист овцы оставалась клеточная пролиферация, при этом сохранялась жизнеспособность, при этом, после

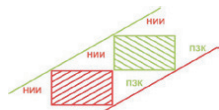
дальнейшей пересадке овце, развитие бластоцисты было возобновлено [88].

Из более 5 400 современных видов млекопитающих наличием диапаузы характеризуются только 130, поэтому логично и предположение, что многие виды никогда не имели диапаузы [123], при этом диапаузирующих видов млекопитающих в южных континентах, где условия относительно стабильны круглый год, намного меньше. Лишь для 0,02% современных млекопитающих диапауза является обязательным этапом беременности независимо от условий обитания. Для большинства видов диапауза необходима как один из механизмов адаптации при расширении ареалов обитания, а также [71, 72] для поддержания необходимого давления отбора.

Детальное изучение процессов, регулирующих пролиферацию стволовых клеток в диапаузе и при реактивации бластоцисты в дальнейшем поможет приблизиться к пониманию особенностей механизмов возникновения нарушений, влекущих онкогенез, таким образом, диапаузирующие эмбрионы могут быть модельным объектом для изучения рака. Разгадка диапаузы предоставит необходимые данные о феномене плюрипотентности ESC у разных видов.

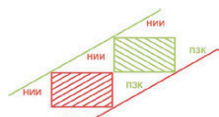
Список литературы

1. Aitken R. J. (1974). Delayed implantation in the roe deer (*Capreolus capreolus*). *J. Reprod. Fert.* 39, 225-233
2. Apte R.N.; Voronov E. Is interleukin-1 a good or bad 'guy' in tumor immunobiology and immunotherapy? *Immunological* 2008, 222, 222–241 (4)
3. Armant D. R., Wang J. and Liu Z. (2000). Intracellular signaling in the developing blastocyst as a consequence of the maternal-embryonic dialogue. *Semin. Reprod. Med.* 18, 273-288.
4. Bachrach U. (2010). The early history of polyamine research. *Plant Physiol. Biochem.* 48, 490-495
5. Battle-Morera L., Smith A. and Nichols J. (2008). Parameters influencing derivation of embryonic stem cells from murine embryos. *Genesis* 46, 758–767
6. Bhatt H., Brunet L. J. and Stewart C. L. (1991). Uterine expression of leukemia inhibitory factor coincides with the onset of blastocyst implantation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88, 11408–11412
7. Biggs WHIII, Meisenhelder J, Hunter T, Cavenee WK, Arden KC. Protein kinase B/Akt-mediated phosphorylation promotes nuclear exclusion of the winged helix transcription factor FKHR1. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96:7421–7426 (5)
8. Binder N. K., Evans J., Gardner D. K., Salamonsen L. A. and Hannan N. J. (2014). Endometrial signals improve embryo outcome: functional role of vascular endothelial growth factor isoforms on embryo development and implantation in mice. *Hum. Reprod.* 29, 2278–2286
9. Birkenkamp KU, Coffey PJ. Regulation of cell survival and proliferation by the FOXO (Forkhead box, class O) subfamily of Forkhead transcription factors. *Biochem Soc Trans* 2003; 31:292–297 (6)
10. Bischoff T. L. W. (1854). *Entwicklungsgeschichte des Rehes*. Giessen: Ricker.
11. Boroviak T., Loos R., Lombard, P., Okahara J., Behr R., Sasaki E., Nichols J., Smith A. and Bertone P. (2015). Lineage-specific profiling delineates the emergence and progression of naive pluripotency in mammalian embryogenesis. *Dev. Cell* 35, 366–382
12. Bourdieu A., Calvo E., Rao C. V. and Akoum A. (2013). Transcriptome analysis reveals new insights into the modulation of endometrial stromal cell receptive phenotype by embryo-derived signals interleukin-1 and human chorionic gonadotropin: possible involvement in early embryo implantation. *PLoS ONE* 8, e64829
13. Brinklow B. R. and Loudon A. S. (1993). Gestation periods in the Pere David's deer (*Elaphurus davidianus*): evidence for embryonic diapause or delayed development. *Reprod. Fert. Dev.* 5, 567–575
14. Brook F. A. and Gardner R. L. (1997). The origin and efficient derivation of embryonic stem cells in the mouse. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94, 5709–5712
15. Brown N., Deb K., Paria B. C., Das S. K. and Reese J. (2004). Embryo-uterine interactions via the Neuregulin family of growth factors during implantation in the mouse. *Biol. Reprod.* 71,



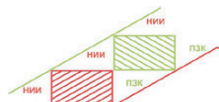
- 2003–2011
16. Brunet A, Bonni A, Zigmond MJ, Lin MZ, Juo P, Hu LS, Anderson MJ, Arden KC, Blenis J, Greenberg ME. Akt promotes cell survival by phosphorylating and inhibiting a forkhead transcription factor. *Cell* 1999; 96:857–868 (8)
 17. Bulut-Karslioglu A., Biechele S., Jin H., Macrae T. A., Hejna M., Gertsenstein M., Song J. S. and Ramalho-Santos M. (2016). Inhibition of mTOR induces a paused pluripotent state. *Nature* 540, 119–123
 18. Cai L., Zhang J. and Duan E. (2003). Dynamic distribution of epidermal growth factor during mouse embryo peri-implantation. *Cytokine* 23, 170–178
 19. Cha J. and Dey S. K. (2014). Cadence of procreation: orchestrating embryouterine interactions. *Semin. Cell Dev. Biol.* 34, 56–64
 20. Cha J., Sun, X. and Dey S. K. (2012). Mechanisms of implantation: strategies for successful pregnancy. *Nat. Med.* 18, 1754–1767
 21. Cha J., Sun X., Bartos A., Felon J., Lefevre P., Daikoku T., Shaw G., Maxson R., Murphy B. D., Renfree M. B. et al. (2013). A new role for muscle segment homeobox genes in mammalian embryonic diapause. *Open Biol.* 3, 130035
 22. Chen J. R., Cheng J.-G., Shatzer T., Sewell L., Hernandez L. and Stewart C. L. (2000). Leukemia inhibitory factor can substitute for nidatory estrogen and is essential to inducing a receptive uterus for implantation but is not essential for subsequent embryogenesis. *Endocrinology* 141, 4365–4372
 23. Chobotova K, Spyropoulou I, Carver J, Manek S, Heath JK, Guillick WJ, Barlow DH, Sargent IL, Mardon HJ. Heparin-binding epidermal growth factor and its receptor ErbB4 mediate implantation of the human blastocyst. *Mech Dev* 2002; 119:137–144.) (10)
 24. Chobotova K., Spyropoulou I., Carver J., Manek S., Heath J. K., Guillick W. J., Barlow D. H., Sargent I. L. and Mardon H. J. (2002). Heparin-binding epidermal growth factor and its receptor ErbB4 mediate implantation of the human blastocyst. *Mech. Dev.* 119, 137–144
 25. Coller H. A., Sang L. and Roberts J. M. (2006). A new description of cellular quiescence. *PLoS Biol.* 4, 0329–0349
 26. Daikoku T., Cha J., Sun X., Tranguch S., Xie H., Fujita T., Hirota Y., Lyndon J., DeMayo F. and Maxson R. (2011). Conditional deletion of *Msx* homeobox genes in the uterus inhibits blastocyst implantation by altering uterine receptivity. *Dev. Cell* 21, 1014–1025
 27. Das SK, Wang X-N, Paria BC, Damm D, Abraham JA, Klagsbrun M, Andrews GK, Dey SK. Heparin-binding EGF-like growth factor gene is induced in the mouse uterus temporally by the blastocyst solely at the site of apposition: a possible ligand for interaction with blastocyst EGF-receptor in implantation. *Development* 1994; 120:1071–1083. (11)
 28. Das S. K., Wang X.-N., Paria, B. C., Damm D., Abraham J. A., Klagsbrun M., Andrews G. K. and Dey S. K. (1994). Heparin-binding EGF-like growth factor gene is induced in the mouse uterus temporally by the blastocyst solely at the site of apposition: a possible ligand for interaction with blastocyst EGF-receptor in implantation. *Development* 120, 1071–1083
 29. Denker H.-W. and Tyndale-Biscoe C. H. (1986). Embryo implantation and proteinase activities in a marsupial (*Macropus eugenii*). *Cell Tissue Res.* 246, 279–291
 30. Desmarais J. A., Bordignon V., Lopes F. L., Smith L. C. and Murphy B. D. (2004). The escape of the mink embryo from obligate diapause. *Biol. Reprod.* 70, 662–670
 31. Dey S. K., Lim H., Das S. K., Reese J., Paria B. C., Daikoku T. and Wang H. (2004). Molecular cues to implantation. *Endocr. Rev.* 25, 341–373
 32. Enders A. C. (1966). The reproductive cycle of the ninebanded armadillo (*Dasypus novemcinctus*). *Symp. Zool. Soc. Lond.* 15, 295–310
 33. Felon J. C. and Murphy B. D. (2017). Inhibition of polyamine synthesis causes entry of the mouse blastocyst into embryonic diapause. *Biol. Reprod.* doi: 10.1093/biolre/iox060
 34. Felon J. C., Banerjee A. and Murphy B. D. (2014a). Embryonic diapause: development on hold. *Int. J. Dev. Biol.* 58, 163–174
 35. Felon J. C., Banerjee A., Lefevre P., Gratin F. and Murphy B. D. (2016). Polyamine-mediated effects of prolactin dictate emergence from mink obligate embryonic diapause. *Biol. Reprod.* 95, 1–13
 36. Felon J. C., Shaw G., Frankenberg S. R., Mur-

- phy B. D. and Renfree M. B. (2017). Embryo arrest and reactivation: potential candidates controlling embryonic diapause in the tammar wallaby and mink. *Biol. Reprod.* 96, 877–894
37. Fu Z., Wang B., Wang S., Wu W., Wang Q., Chen, Y., Kong S., Lu J., Tang Z., Ran H. et al. (2014). Integral proteomic analysis of blastocysts reveals key molecular machinery governing embryonic diapause and reactivation from implantation in mice. *Biol. Reprod.* 90, 52
38. Gardner D. K. and Lane M. (1993). Amino acids and ammonium regulate mouse embryo development in culture. *Biol. Reprod.* 48, 377–385
39. Gurtan A. M., Ravi A., Rahl P. B., Bosson A. D., JnBaptiste C. K., Bhutkar A., Whittaker C. A., Young R. A. and Sharp P. A. (2013). Let-7 represses Nr6a1 and a mid-gestation developmental program in adult fibroblasts. *Genes Dev.* 27, 941–954
40. Hamatani T., Daikoku T., Wang H., Matsumoto H., Carter M. G., Ko M. S. H. and Dey S. K. (2004). Global gene expression analysis identifies molecular pathways distinguishing blastocyst dormancy and activation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101, 10326–10331
41. Hannan N. J., Paiva P., Meehan K. L., Rombauts L. J. F., Gardner D. K. and Salamonsen L. A. (2011). Analysis of fertility-related soluble mediators in human uterine fluid identifies VEGF as a key regulator of embryo implantation. *Endocrinology* 152, 4948–4956
42. Hardy K. and Spanos S. (2002). Growth factor expression and function in the human and mouse preimplantation embryo. *J. Endocrinol.* 172, 221–236
43. Hearn C. M. (2005). Onset of embryonic diapause in the tammar wallaby, *Macropus eugenii*. PhD Thesis, University of Melbourne.
44. Hinds L. A. (1989). Morning pulse of prolactin maintains seasonal quiescence in the tammar, *Macropus eugenii*. *J. Reprod. Fertil.* 87, 735–744
45. Hinds L. A. and Tyndale-Biscoe C. H. (1982). Plasma progesterone levels in the pregnant and non-pregnant tammar, *Macropus eugenii*. *J. Endocrinol.* 93, 99–107
46. Hinds L. A. and Tyndale-Biscoe C. H. (2013). Daily prolactin pulse inhibits the corpus luteum during lactational quiescence in the marsupial, *Macropus eugenii*. *Reprod. Fertil. Dev.* 25, 456–461
47. Hirzel D. J., Wang J., Das S. K., Dey S. K. and Mead R. A. (1999). Changes in uterine expression of Leukemia Inhibitory Factor during pregnancy in the Western Spotted Skunk. *Biol. Reprod.* 60, 484–492
48. Hoffmann B., Barth D. and Karg G. (1978). Progesterone and estrogen levels in peripheral plasma of the pregnant and nonpregnant roe deer (*Capreolus capreolus*). *Biol. Reprod.* 19, 931–935
49. Hondo E. and Stewart C. L. (2004). Profiling gene expression in growth-arrested mouse embryos in diapause. *Genome Biol.* 6, 202
50. Huet Y. M., Andrews G. K. and Dey S. K. (1989). Steroid hormonal modulation of c-myc and EGF in the mouse uterus during the peri-implantation period. In *Early Embryo Development and Paracrine Relationships* (ed. S. Heyner and L. Wiley). UCLA Symposia on Molecular and Cellular Biology, New Series 117, pp. 192. New York: A. R. Liss
51. Igarashi K. and Kashiwagi K. (2010). Modulation of cellular function by polyamines. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 42, 39–51. IUCN (2016). The IUCN Red List of Threatened Species, version 2016-3 (accessed 7 December 2016), <http://www.iucnredlist.org>
52. Jane C. Fenelon Arnab Banerjee Pavine Lefèvre Fanélie Gratian Bruce D. Murphy. Polyamine-Mediated Effects of Prolactin Dictate Emergence from Mink Obligate Embryonic Diapause.. *Biology of Reproduction*, Volume 95, Issue 1, 1 July 2016, 6, 1–13, <https://doi.org/10.1095/biolreprod.116.139204> (22)
53. Kawase E., Suemori H., Takahashi N., Okazaki K., Hashimoto K. and Nakatsuji N. (1994). Strain difference in establishment of mouse embryonic stem (ES) cell lines. *Int. J. Dev. Biol.* 38, 385–390
54. Laird M. K., Hearn C. M., Shaw G. and Renfree M. B. (2016). Uterine morphology during diapause and early pregnancy in the tammar wallaby (*Macropus eugenii*). *J. Anat.* 229, 459–472
55. Lambert R. T., Ashworth C. J., Beattie L., Gebbie F. E., Hutchinson J. S. M., Kyle D. J. and Racey P. A. (2001). Temporal changes in repro-



- ductive hormones and conceptus-endometrial interactions during embryonic diapause and reactivation of the blastocyst in European roe deer (*Capreolus capreolus*). *Reproduction* 121, 863–871
56. Leach R. E., Khalifa R., Ramirez N. D., Das S. K., Wang J., Dey S. K., Romero R. and Armant D. R. (1999). Multiple roles for heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor are suggested by its cell-specific expression during the human endometrial cycle and early placentation. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 84, 3355–3363
57. Lee J.-E., Oh H.-A., Song H., Jun J. H., Roh C.-R., Xie H., Dey S. K. and Lim H. J. (2011). Autophagy regulates embryonic survival during delayed implantation. *Endocrinology* 152, 2067–2075
58. Lefevre P. L. C., Palin M.-F. and Murphy B. D. (2011c). Polyamines on the reproductive landscape. *Endocr. Rev.* 32, 694–712
59. Lefevre P. L. C., Palin M.-F., Beaudry D., Dobias-Goff M., Desmarais J. A., Llerena V. E. M. and Murphy B. D. (2011a). Uterine signaling at the emergence of the embryo from obligate diapause. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 300, E800–E808
60. Lefevre P. L. C., Palin M.-F., Chen G., Turecki G. and Murphy B. D. (2011b). Polyamines are implicated in the emergence of the embryo from obligate diapause. *Endocrinology* 152, 1627–1639
61. Lim H., Das, S. K. and Dey S. K. (1998). erbB genes in the mouse uterus: cell specific signaling by Epidermal growth factor (EGF) family of growth factors during implantation. *Dev. Biol.* 204, 97–110
62. Liu W.-M., Pang R. T. K., Cheong A. W. Y., Ng E. H. Y., Lao K., Lee K.-F. and Yeung W. S. B. (2012). Involvement of microRNA Lethal-7a in the regulation of embryo implantation in mice. *PLoS ONE* 7, e37039
63. Lopes F. L., Desmarais J. A. and Murphy B. D. (2004). Embryonic diapause and its regulation. *Reproduction* 128, 669–678
64. Lopes F. L., Desmarais J., Ledoux S., Gevry N. Y., Lefevre P. and Murphy B. D. (2006). Transcriptional regulation of uterine vascular endothelial growth factor during early gestation in a carnivore model, *Mustela vison*. *J. Biol. Chem.* 281, 24602–24611
65. Maccarrone M., Falciglia K., Di Rienzo M. and Finazzi-Agró A. (2002). Endocannabinoids, hormone-cytokine networks and human fertility. *Prostaglandins Leukot. Essential Fatty Acids* 66, 309–317
66. Mantalenakis S. J. and Ketchel M. M. (1966). Frequency and extent of delayed implantation in lactating rats and mice. *J. Reprod. Fertil.* 12, 391–394
67. Martin F. C., Ang C.-S., Gardner D. K., Renfree M. B. and Shaw G. (2016). Uterine flushing proteome of the tammar wallaby after reactivation from diapause. *Reproduction* 152, 491–505
68. Martin K. L. M. and Podrabsky J. E. (2017). Hit pause: developmental arrest in annual killifishes and their close relatives. *Dev. Dyn.* doi: 10.1002/dvdy.24507
69. Martins R., Lithgow G. J. and Link W. (2016). Long live FOXO: unraveling the role of FOXO proteins in aging and longevity. *Aging Cell* 15, 196–207
70. McLaren A. (1968). A study of blastocysts during delay and subsequent implantation in lactating mice. *J. Endocrinol.* 42, 453–463
71. Mead R. A. (1981). Delayed implantation in mustelids with special emphasis on the spotted skunk. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 29, 11–24
72. Mead R. A. (1993). Embryonic diapause in vertebrates. *J. Exp. Zool.* 266, 629–641
73. Modlinski JA. *Reprod Biol Endocrinol.* 2013 Sep 17;11:92. doi: 10.1186/1477-7827-11-92. Embryonic diapause in humans: time to consider? Ptak GE1, , Loi P. PMID: 24044744 PMCID: PMC3848826 DOI: 10.1186/1477-7827-11-92
74. Mukhopadhyay A., Oh S. W. and Tissenbaum H. A. (2006). Worming pathways to and from DAF-16/FOXO. *Exp. Gerontol.* 41, 928–934
75. Murphy B. D. (2012). Embryonic diapause: advances in understanding the enigma of seasonally delayed implantation. *Anim. Reprod. Sci.* 47 Suppl. 6, 121–124
76. Murphy B. D. and James D. A. (1974). The effects of light and sympathetic innervation to the head on nidation in mink. *J. Exp. Zool.* 187, 267–276

77. Murphy B. D., Concannon P. W., Travis H. F. and Hansel W. (1981). Prolactin: the hypophyseal factor that terminates embryonic diapause in mink. *Biol. Reprod.* 25, 487–491
78. Nallasamy S., Li Q., Bagchi M. K. and Bagchi I. C. (2012). *Msx* homeobox genes critically regulate embryo implantation by controlling paracrine signaling between uterine stroma and epithelium. *PLoS Genet.* 8, e1002500
79. Nichols J., Chambers I., Taga T. and Smith A. (2001). Physiological rationale for responsiveness of mouse embryonic stem cells to gp130 cytokines. *Development* 128, 2333–2339
80. O'Neill C. (2005). The role of Paf in embryo physiology. *Hum. Reprod. Update* 11, 215–228
81. Oki T., Nishimura K., Kitaura J., Togami K., Maehara A., Izawa K., Sakaue Sawano A., Nida A., Miyano S., Aburatani H. et al. (2014). A novel cell-cycle indicator, mVenus-p27K2, identifies quiescent cells and visualizes G0–G1 transition. *Sci. Rep.* 4, 4012
82. Paria B. C., Das S. K., Andrews G. K. and Dey S. K. (1993a). Expression of the epidermal growth factor receptor gene is regulated in mouse blastocysts during delayed implantation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90, 55–59
83. Paria B. C., Elenius K., Klagsbrun M. and Dey S. K. (1999). Heparin-binding EGF-like growth factor interacts with mouse blastocysts independently of ErbB1: a possible role for heparan sulfate proteoglycans and ErbB4 in blastocyst implantation. *Development* 126, 1997–2005
84. Paria B. C., Huet-Hudson Y. M. and Dey S. K. (1993b). Blastocyst's state of activity determines the "window" of implantation in the receptive mouse uterus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90, 10159–10162
85. Passavant C., Zhao X., Das S. K., Dey S. K. and Mead R. A. (2000). Changes in uterine expression of leukemia inhibitory factor receptor gene during pregnancy and its up-regulation by prolactin in the western spotted skunk. *Biol. Reprod.* 63, 301–307
86. Pritchett-Corning K. R., Clifford C. B. and Festing M. F. W. (2013). The effects of shipping on early pregnancy in laboratory rats. *Birth Defects Res. B* 98, 200–205
87. Psychoyos A. (1973). Hormonal control of oovo-implantation. *Vitam. Horm.* 31, 201–256
88. Pta, G. E., Modlinski J. A. and Loi P. (2013). Embryonic diapause in humans: time to consider? *Reprod. Biol. Endocrinol.* 11, 92
89. Rasweiler J. J., IV and Badwaik N. K. (1997). Delayed development in the shorttailed fruit bat, *Carollia perspicillata*. *J. Reprod. Fertil.* 109: 7–20
90. Renfree M. B. (1972). Influence of the embryo on the marsupial uterus. *Nature* 240, 475–477
91. Renfree M. B. (1973). Proteins in the uterine secretions of the marsupial *Macropus eugenii*. *Dev. Biol.* 32, 41–49
92. Renfree M. B. and Calaby J. H. (1981). Background to delayed implantation and embryonic diapause. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 29, 1–9
93. Renfree M. B. and Shaw G. (2000). Diapause. *Annu. Rev. Physiol.* 62, 353–375
94. Renfree M. B. and Shaw G. (2014). Embryo-endometrial interactions during early development after embryonic diapause in the marsupial tamar wallaby. *Int. J. Dev. Biol.* 58, 175–181
95. Riese D. J. and Stern D. F. (1998). Specificity within the EGF family/ErbB receptor family signaling network. *BioEssays* 20, 41–48
96. Rosario G. X. and Stewart C. L. (2016). The multifaceted actions of leukemia inhibitory factor in mediating uterine receptivity and embryo implantation. *Am. J. Reprod. Immunol.* 75, 246–255
97. Scognamiglio R., Cabezas-Wallscheid N., Thier M. C., Altamura S., Reyes A., Prendergast A.M., Baumgärtner D., Carnevalli L. S., Atzberger A., Haas S. et al. (2016). *Myc* depletion induces a pluripotent dormant state mimicking diapause. *Cell* 164, 668–680
98. Shaw G. and Renfree M. B. (1984). Concentrations of oestradiol-17 β in plasma and corpora lutea throughout pregnancy in the tamar, *Macropus eugenii*. *J. Reprod. Fertil.* 72, 29–37
99. Shaw G. and Renfree M. B. (1986). Uterine and embryonic metabolism after diapause in the tamar wallaby, *Macropus eugenii*. *J. Reprod. Fertil.* 76, 339–347
100. Song J. H., Houde A. and Murphy B. D. (1998). Cloning of Leukemia Inhibitory Factor (LIF) and its expression in the uterus during embryonic diapause and implantation in the mink



- (*Mustela vison*). Mol. Reprod. Dev. 51, 13–21.
101. Spindler R. E., Renfree M. B. and Gardner D. K. (1996). Carbohydrate uptake by quiescent and reactivated mouse blastocysts. J. Exp. Zool. 276, 132–137
102. Spindler R. E., Renfree M. B., Shaw G. and Gardner D. K. (1998). Reactivating tammar wallaby blastocysts oxidize glucose. Biol. Reprod. 58, 1425–1431
103. Spindler R. E., Renfree M. B., Shaw G. and Gardner D. K. (1999). Reactivating tammar wallaby blastocysts oxidize fatty acids and amino acids. J. Reprod. Fertil. 115, 79–86
104. Stachecki J. J. and Armant D. R. (1996). Transient release of calcium from inositol 1,4,5-triphosphate-specific stores regulates mouse preimplantation development. Development 122, 2485–2496
105. Stewart C. L., Kaspar P., Brunet L. J., Bhatt H., Gadi I., Köntgen F. and Abbondanzo S. J. (1992). Blastocyst implantation depends on maternal expression of leukemia inhibitory factor. Nature 359, 76–79
106. Stoufflet I., Mondain-Monval M., Simon P. and Martinet L. (1989). Patterns of plasma progesterone, androgen and oestrogen concentrations and in-vitro ovarian steroidogenesis during embryonic diapause and implantation in the mink (*Mustela vison*). J. Reprod. Fert. 87, 209–221
107. Surani M. A. (1975). Zona pellucida denudation, blastocyst proliferation and attachment in the rat. J. Embryol. Exp. Morph. 33, 343–353
108. Tamada H., Das S. K., Andrews G. K. and Dey S. K. (1991). Cell-type-specific expression of transforming growth factor- α in the mouse uterus during periimplantation period. Biol. Reprod. 45, 365–372
109. Tan J, MacRae TH. Cell Stress Chaperones. 2019 Mar;24(2):385-392. doi: 10.1007/s12192-019-00971-7. Epub 2019 Jan 30. The synthesis of diapause-specific molecular chaperones in embryos of *Artemia franciscana* is determined by the quantity and location of heat shock factor 1 (Hsf1). (37)
110. Tarin J. J. and Cano A. (1999). Do human concepti have the potential to enter into diapause? Hum. Reprod. 14, 2434–2436
111. Tothova Z., Kollipara R., Huntly B. J., Lee B. H., Castrillon D. H., Cullen D. E., McDowell E. P., Lazo-Kallaniam S., Williams I. R., Sears C. et al. (2007). FoxOs are critical mediators of hematopoietic stem cell resistance to physiologic oxidative stress. Cell 128, 325–339
112. Tyndale-Biscoe C. H. and Hearn J. P. (1981). Pituitary and ovarian factors associated with seasonal quiescence of the tammar wallaby, *Macropus eugenii*. J. Reprod. Fertil. 63, 225–230
113. Waltrick D., Jones S. M., Simpfendorfer C. A. and Awruch C. A. (2014). Endocrine control of embryonic diapause in the Australian sharpnose shark *Rhizoprionodon taylori*. PLoS ONE 9, e101234
114. Wang H., Matsumoto H., Guo Y., Paria B. C., Roberts R. L. and Dey S. K. (2003). Differential G protein-coupled cannabinoid receptor signaling by anandamide directs blastocyst activation for implantation. Proc. Am. Phil. Soc. 100, 14914–14919
115. Wang J., Mayernik L., Schultz J. F. and Armant D. R. (2000). Acceleration of trophoblast differentiation by heparin-binding EGF-like growth factor is dependent on the stage-specific activation of calcium influx by ErbB receptors in developing mouse blastocysts. Development 127, 33–44
116. Webb A.E., Kundaje A. and Brunet A. (2016). Characterization of the direct targets of FOXO transcription factors throughout evolution. Aging Cell 15, 673–685
117. Weichert C. K. (1940). The experimental shortening of delayed pregnancy in the albino rat. Anat. Rec. 77, 31–47
118. Weichert C. K. (1942). The experimental control of prolonged pregnancy in the lactating rat by means of estrogen. Anat. Rec. 83, 1–17
119. Weitlauf H. M. (1994). Biology of implantation. In The Physiology of Reproduction (ed. E. Knobil and J. D. O'Neill). New York: Raven
120. Wimsatt W. A. (1975). Some comparative aspects of implantation. Biol. Reprod. 12, 1–40
121. Winkle L. J. V., Tesch J. K., Shah A. and

- Campione A. L. (2006). System B0,+ amino acid transport regulates the penetration state of blastocyst implantation with possible long-term developmental consequences through adulthood. Hum. Reprod. Update 12, 145–157
122. Yoo H.-J., Barlow, D. H. and Mardon, H. J. (1997). Temporal and spatial regulation of expression of heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor in the human endometrium: a possible role in blastocyst implantation. Dev. Genet. 21, 102–108
123. Yoshinaga K. and Adams, C. E. (1966). Delayed implantation in the spayed, progesterone treated adult mouse. J. Reprod. Fertil. 12, 593-595
124. Ziegler L. (1843). Beobachtungen Uber Die Brunst und den Embryo der Rehe. Hanove BB105:1127

DIAPAUSE: SIGNIFICANCE AND MECHANISMS OF REGULATION

E.S. Shchukina, I.S. Kashapova, D.V Popov, G.Yu. Kosovsky

FSBSI NIIPZK

e-mail: niipzk@mail.ru

Diapause is the delay in an embryo growth or its arrest at the stage of blastocyst. This can be found in some animal species, including mammals.

The review considers the details of the diapause concept, the biological significance of the process, and characterizes the main mechanisms governing the preimplantation delay in the embryonic development of some mammal species.

Keywords: diapause, blastocyst, reactivation, signal transduction, embryonic stem cells.

Figure captions

Figure 1. Hormonal modulations in course of the quiescence. The hormonal panels of mouse, mink and tammar wallaby at entering the quiescence, during the quiescence and after the blastocyst reactivation. Three stages of the quiescence course are characterized by different hormone levels (except for the estradiol in mink); the interspecies differences are considerable. Blue lines are progesterone (P4), red lines are estradiol (E2), orange lines are prolactin (PRL)

Figure 2. Lactational and seasonal quiescence. The comparison of the annual cycles of the seasonal quiescences in the mammals from the Northern and Southern hemispheres by the examples of tammar wallaby (*Macropus eugenii*), New Zealand fur seal (*Arctocephalus forsteri*), mink (*Neovison vison*) and roe deer (*Capreolus capreolus*). Significantly, the expected blastocyst reactivation in the fur seal (*) is a response to the fall equinox. The durations and periods of the quiescence in different species vary greatly.

SQ – seasonal quiescence

Figure 3. The transition of the signals of the uterus and embryo secretory factors during the quiescence. Hormones PRL, P4 and E2 in wallaby, mouse and mink during the quiescence reactivation and the uterus -blastocysts interaction. The hormones necessary for the induction of a blastocyst reactivation and their effects are species-specific. The blastocysts of both wallaby and minks react to the prolactin effect, but in the case of mink this effect is stimulating, while in the case of wallaby – inhibiting. By contrast, prolactin does not exert an immediate effect on the mouse blastocysts though its concentration in the lactation period is high. The blastocyst reactivation requires some certain level of blood progesterone, while the main reactivation stimulator in mice is estradiol that does not exert immediate effects on the mink and wallaby blastocysts. PRL – prolactin; P4 – progesteron; E2 – estradiol. The cytokines and growth factors active during the quiescence are marked with the green arrow; the factors with the reduced expression – with the red one. The expression of the genes of muscle segment homeobox genes (MSX) in the uterus is also arrested up to the reactivation start.