

611.018
6 961

Е. В. ЗЫБИНА

ЦИТОЛОГИЯ ТРОФОБЛАСТА



АКАДЕМИЯ НАУК СССР
ИНСТИТУТ ЦИТОЛОГИИ

611.018
3 961

Е. В. ЗЫБИНА

ЦИТОЛОГИЯ ТРОФОБЛАСТА

Ответственный редактор
П. П. РУМЯНЦЕВ



ЛЕНИНГРАД
ИЗДАТЕЛЬСТВО «НАУКА»
ЛЕНИНГРАДСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ
1986

Зыбина Е. В. Цитология трофобласта — Л.: Наука, 1986. — 192 с.

В книге приводятся современные данные о морфофизиологических особенностях клеток трофобласта. Рассматриваются процессы имплантации зародыша, сложные взаимоотношения клеток трофобласта с материнскими тканями. Значительную часть книги занимает изложение собственных результатов исследований автора относительно способов репродукции клеток трофобласта и структурно-функциональной организации «неклассических» полиплоидных хромосом. В книге описан процесс фрагментации гигантских ядер в трофобласте. Указываются перспективы использования клеток трофобласта как модели при изучении ряда важных проблем биологии. Книга рассчитана на научных работников — цитологов, гистологов и генетиков, а также на студентов — биологов и медиков. Библиогр. 549 назв. Ил. 73. Табл. 6.

Рецензенты: В. Я. БРОДСКИЙ, И. Б. РАЙКОВ

Имплантация зародыша и образование плаценты являются важнейшими этапами эмбрионального развития млекопитающих. Существенная роль в таких процессах принадлежит клеткам трофобласта и децидуальным клеткам. При осуществлении связи между зародышевым и материнским организмами эти клетки выполняют ряд специализированных функций, среди которых в качестве основных можно назвать трофическую, а также защитную. Последнее обусловлено тем, что и те, и другие клеточные популяции являются своего рода барьером, разделяющим два до некоторой степени генетически чужеродных организма. Этим определяется функциональное своеобразие клеток трофобласта и децидуальных клеток, которое обуславливает целый ряд их цитологических особенностей. Изучение последних является актуальным не только для биологии развития, но и с точки зрения проблемы тканевой совместимости. Вместе с тем выявленные в последние годы уникальные цитологические особенности клеток трофобласта имеют существенное значение для решения проблем общей цитологии.

Последнее обстоятельство послужило причиной того, что многие проблемы современной цитологии (соматическая полиплоидия и политения, тонкая организация некоторых компонентов ядра, проблема инактивации хроматина в интерфазном ядре, деплоидизация и фрагментация полиплоидных ядер, реактивность мембранных структур ядра и цитоплазмы) освещены в настоящей книге более широко, чем это, казалось бы, имеет отношение к поставленной проблеме. Однако это необходимо для того, чтобы сущность многих процессов, лежащих в основе дифференцировки, репродукции и особенностей функционирования клеток трофобласта и децидуальных клеток, представлялась наиболее ясной.

Несмотря на то что гигантские клетки трофобласта были детально описаны еще в работах конца прошлого и начала нашего века (Duval, 1891; Максимов, 1898, и др.) и известна их локализация на границе между материнской и фетальной частью плаценты, причины их гигантизма долгое время оставались неясными. Оставались непонятными природа роста и механизмы репродукции этих клеток, в то время как было известно, что митозы в популяции гигантских клеток трофобласта отсутствуют (Bridgman, 1948a, 1948b). Выяснение механизмов умножения генома этих клеток происходило в период накопления большого количества фактов о соматической полиплоидии, возникновения и постоянного совершенствования концепций о механизмах полиплоидизации.

Исследования автора в этот период осуществлялись под влиянием работ ряда советских и зарубежных исследователей: И. И. Соколова (1955, 1967a, 1967b), А. А. Прокофьевой-Бельговской (1960, 1963, 1977), И. И. Кикнадзе (1972), В. Я. Бродского (1966; Бродский, Урываева, 1981), И. Б. Райкова (1967, 1978), Л. Гейтлера (Geitler, 1953), Э. Чермак-Восс (Tschermak-Woess, 1963, 1971), В. Нагля (Nagl, 1962b, 1978). Обнаружение неклассических политенных хромосом и выяснение особенностей цикла политенного ядра в трофобласте млекопитающих наряду с другими данными привели к появлению более широкого понятия о политении как об особой форме клеточного цикла.

Плацента, в состав которой входят клетки трофобласта, является провизорным органом, имеющим вполне определенную и сравнительно небольшую продолжительность жизни. Этим, вероятно, обусловлена строгая запрограммированность многих свойств клеток трофобласта, что делает их удобной моделью для изучения различных аспектов клеточной дифференцировки.

Одним из подобных аспектов является вопрос о том, насколько соматическая полиплоидия некоторых тканей связана с особенностями их дифференцировки. С этой точки зрения представляет интерес параллельное рассмотрение способов репродукции различных популяций клеток трофобласта и динамики проявления некоторых функциональных особенностей этих клеток (способность к инвазии в глубь материнских тканей, фагоцитарная активность). Важно отметить, что характерной чертой наших исследований и обобщений является рассмотрение особенностей структуры и функции клеток трофобласта, во-первых, с позиций их взаимоотношений с окружающими тканями материнского организма и, во-вторых, с точки зрения появления и развития тех или иных свойств клеток трофобласта во времени. Такой подход помогает лучше представить себе существующие соотношения между развитием тканеспецифических функций и особенностями репродукции клеток.

До сих пор не до конца еще выяснены механизмы чрезвычайно редкого явления — разделения гигантских ядер на фрагменты низкой степени плоидности, которое было обнаружено нами в клетках трофобласта. Попытки расшифровать механизм фрагментации привели к установлению новых интересных фактов о поведении мембранных структур клетки и о реактивности мембран ядерной оболочки, которые могут быть интересны цитологам различного профиля.

В основу настоящей книги легли главным образом результаты многолетних исследований автора в области цитологии трофобласта; эти результаты рассматриваются с позиций перечисленных выше проблем. При написании книги мы стремились сделать ее доступной для биологов самого широкого профиля, а также, учитывая практическое значение приводимых сведений, для специалистов в области медицины и ветеринарии.

Автор искренне благодарен П. П. Румянцеву за руководство исследованиями, результаты которых вошли в данную книгу, и за советы, данные при чтении рукописи. Пользуюсь случаем искренне поблагодарить М. М. Тихомирову и И. И. Кикнадзе за участие в обсуждении ряда вопросов, которое оказало большое влияние на ход исследований и на сделанные обобщения. Автор признателен также всем сотрудникам, участвовавшим и помогавшим в работе: Н. А. Черногрядской, М. В. Кудрявцевой, Б. Н. Кудрявцеву, Т. А. Грищенко, И. А. Мосьян, Т. Г. Зыбиной, Е. Д. Схолль, Н. В. Сеиной, В. М. Семенову, И. В. Альванг, а также всем сотрудникам лаборатории морфологии клетки Института цитологии АН СССР.

ЦИТОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МЕЖДУ ТРОФОБЛАСТОМ И КЛЕТКАМИ ЭНДОМЕТРИЯ В ХОДЕ ИМПЛАНТАЦИИ И ПЛАЦЕНТАЦИИ

Происхождение и основные функции трофобласта

Поскольку формирование и дифференцировка клеток трофобласта тесно связаны с процессом имплантации и плацентации зародыша, причем в этот сложный процесс вовлекаются и другие ткани, логично начать рассмотрение с развития самого трофобласта и его взаимодействия с другими тканями.

Трофобласт — это вспомогательный внезародышевый орган, возникающий в эмбриональном развитии млекопитающих из части бластомеров (Gardner, 1972). В ходе дробления яйцеклетки образуется морула. Через некоторое время в плотной массе клеток появляется полость: зародыш на этой стадии называется бластоцистой. Слой клеток, окружающих полость бластоцисты, и их скопление на одном из полюсов зародыша получили название трофобласта. Скопление клеток, обращенное в полость, называют внутренней клеточной массой; из нее развивается зародыш (табл. I, а; II, а).¹ Бластоциста крысы около суток находится в просвете рога матки в свободном состоянии, а затем имплантируется в стенку рога матки (на 6-е сут развития). Основной функцией трофобласта является участие в питании зародышей млекопитающих. Одновременно с этим трофобласт осуществляет внедрение бластоцисты в слизистую оболочку матки и играет решающую роль в установлении тесной взаимосвязи между зародышем и материнским организмом в ходе образования плаценты.

Внимание эмбриологов и гистологов издавна привлекали вопросы о том, каким образом осуществляются сложные процессы имплантации зародыша в слизистую оболочку матки, как происходит формирование плаценты, каким образом дробящаяся яйцеклетка, лишенная запасов питательных веществ, требуемых для эмбрионального развития, может черпать их из материнского организма.

На ранних стадиях развития до образования плаценты питание зародыша происходит главным образом гистотрофным путем (через желточный мешок, а позднее при участии клеток эктоплацентарного конуса). При этом источником питания зародыша являются распадающиеся материнские ткани, экстравазаты материнской крови, мигрирующие лейкоциты. После того как плацента полностью сформируется, питание и газообмен осуществляются гемотрофным путем (через лабиринтный отдел плаценты). На протяжении всего периода беременности трофическая функция выполняется главным образом трофобластом: до образования плаценты гигантские клетки трофобласта осуществляют захват и переваривание материнских клеток, а после образования плаценты функция питания переходит к системе, в которую входит трофобласт лабиринтного отдела и эндотелий фетальных сосудов (Жемкова, 1956).

К настоящему времени накопилось большое количество данных о взаимодействии между бластоцистой и тканями эндометрия в ходе имплантации. Однако в объяснении этих явлений многие вопросы еще являются дискуссионными. В истории изучения этих взаимоотношений существовали две основные точки зрения — об активности зародыша по отношению к тканям слизистой оболочки матки (Максимов, 1900; Spee, 1901) и, наоборот, об активной роли быстро растущей стенки матки, которая окружает довольно пассивный зародыш (Loeb Leo, 1909; Krehbiel, 1937. и др.). Обе эти точки зрения, несмотря на их односторонний характер, оказались в основе своей верными, так как были

¹ Таблицы с римской нумерацией см. на вкладышах.

подтверждены морфологическими наблюдениями и экспериментальными исследованиями, показавшими как способность зародыша к инвазии в глубь материнских тканей, так и наличие децидуальной реакции.

Децидуальная реакция и ее роль в формировании материнской части плаценты

Одной из характерных черт децидуальной реакции является изменение соединительнотканых клеток слизистой оболочки матки (или стромы) под влиянием имплантирующегося зародыша. Соединительнотканые клетки при этом гипертрофируются и превращаются в крупные, округлые, богатые цитоплазмой децидуальные клетки. Децидуальная ткань участвует в образовании материнской части плаценты. При родах она отслаивается от базальной части эндометрия и отпадает вместе с плацентой, поэтому она и получила название отпадающей, или децидуальной, ткани.

Об активной роли эндометрия в процессе имплантации зародыша убедительно свидетельствуют эксперименты Лео Леба (Loeb Leo, 1908, 1909). С целью выяснения условий, приводящих к такому росту, он провел опыты с морскими свинками и кроликами. Через 2—9 сут после овуляции яйцеклеток морской свинки Лео Леб делал глубокие вертикальные или горизонтальные разрезы на матке, нарушая ее непрерывность. На местах разрезов образовывались отчетливые опухолевидные образования, состоящие из типичной децидуальной ткани; децидуома состояла из большого числа крупных эпителиоидных, расположенных плотными рядами клеток и большого количества капилляров. Эти разрастания соединительнотканых клеток наблюдались под неповрежденным эпителием эндометрия. Значительная гипертрофия отмечалась автором и в эндотелии сосудов; в последних часто встречались митозы. Децидуомы, экспериментально вызванные у морских свинок, имели ограниченный срок жизни. Наивысшего развития они достигали на 9—10-е сут после операции; на 13—16-е сут децидуомы внезапно становились некротическими. Опыты Лео Леба указывают на необходимость гормональной подготовки слизистой оболочки матки для развития децидуальной реакции. Анализируя результаты опытов, Лео Леб отмечает сходство в реакции эндометрия матки при ее травмировании, с одной стороны, и при нормальной имплантации и плацентации зародыша — с другой. На основании полученных данных автор предполагает, что рост тканей, происходящий при формировании плаценты, вызывается двумя основными взаимосвязанными факторами: гормонами, выделяемыми яичником и сенсibiliзирующими ткани эндометрия, и травмированием матки. Ни один из них, взятый в отдельности, не может обусловить рост и образование материнской части плаценты (или децидуомы). Лишь после гормональной сенсibilизации тканей матки второй фактор (травма) действует решающим образом.

В настоящее время имеется обширная литература относительно роли гормонов в процессе имплантации и при функционировании плаценты. Мы не останавливаемся на рассмотрении физиологии плаценты и децидуом и гуморальной регуляции взаимоотношений между плодом и материнским организмом, поскольку эта специальная область исследования находится за пределами поставленных нами задач.

После экспериментов Лео Леба появилась целая серия работ, в которых стимулировалось развитие искусственных децидуом у ряда грызунов — кроликов, крыс и мышей (Nielson, 1921; Long Evans, 1922; Parkes, 1929; Selye, McKeon, 1935; Krehbiel, 1937). Оказалось, что время, в течение которого децидуома может быть вызвана, ограничено и колеблется в пределах от 3 до 8 сут после овуляции (Loeb Leo, 1909; Nielson, 1921). Кроме того, было установлено, что децидуальная реакция может быть вызвана при различных физиологических состояниях материнского организма, характеризующихся присутствием функционирующего желтого тела и его гормонов, а именно: на ранних стадиях беременности (Loeb Leo, 1909), во время лактации (Long, Evans, 1922; Selye, McKeown, 1935), в состоянии псевдобеременности, вызванной кратковременным помещением в маточный *servix* тонкого стеклянного стерженька (Krehbiel, 1937) или электрическим раздражением влагалища (Blandau, 1949).

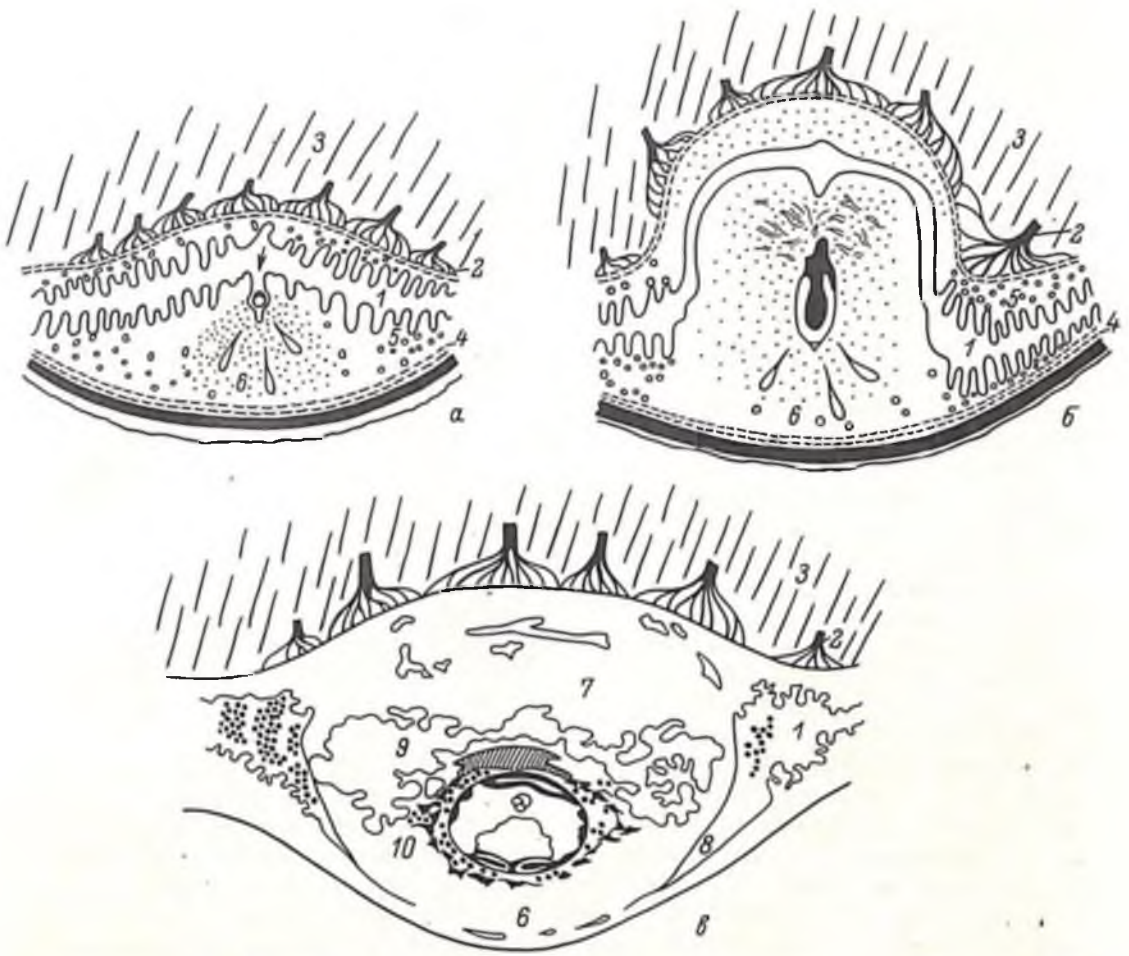


Рис. 1. Схема имплантации бластоцисты мыши в слизистую оболочку матки (продольный срез) (по: Snell, 1941).

а — начало имплантации бластоцисты, последняя располагается в одной из складок эндометрия на анти-мезометральной стороне; б — имплантировавшийся зародыш располагается в замкнутой имплантационной камере, децидуальная реакция еще более продвинута, однако просвет рога матки еще открыт; в — около имплантирующегося зародыша видны кровопроизлиния материнской крови, рог матки закрыт. 1 — просвет рога матки, 2 — материнские кровеносные сосуды, 3 — мезометральная складка, 4 — миометрий, 5 — эндометрий, 6 — зона децидуальных клеток, 7 — decidua basalis, 8 — начало вторичного возникновения просвета рога матки с антимезометральной стороны, 9 — многочисленные лакуны с материнской кровью располагаются в мезометральной части децидуа, 10 — decidua capsularis.

Кребиль (Krehbiel, 1937) на основании тщательно проведенного цитологического и гистологического изучения децидуальных тканей, образующихся при нормальной имплантации зародыша крысы и в искусственно вызванных децидуомах, установил, что формообразовательные процессы в эндометрии были сходны в контроле и в опыте; различия состояли в том, что в опыте отсутствовало быстрое расширение имплантационной камеры, большая часть эпителиальной поверхности не была нарушена.

Развитие децидуальной ткани происходит локально. Оно ограничено тем участком, на который оседает бластоциста или наносится травма. Не останавливаясь подробно на топографии развития децидуальной реакции, рассмотрим лишь некоторые этапы последовательного преобразования соединительнотканых клеток в децидуальные.

Различные области децидуальной оболочки называются по-разному, в зависимости от расположения их относительно места имплантации зародыша. Decidua capsularis — та часть децидуальной оболочки, которая возникает у крысы и мыши в месте первичного прикрепления зародыша к слизистой оболочке матки (рис. 1). По мере роста зародыша decidua capsularis покрывает большую площадь его, постепенно истончается и атрофируется. Decidua basalis —

та часть децидуальной оболочки, которая возникает несколько позднее, чем decidua capsularis, на стороне эндометрия, противоположной месту имплантации (на мезометральной стороне). Эта часть децидуальной оболочки впоследствии образует материнскую часть плаценты, которая существует до конца беременности и отторгается вместе с плацентой во время родов.

Подробно механизм развития децидуальной ткани изучен Железняком и его сотрудниками (Sachs, Shelesnyak, 1955; Shelesnyak, 1959, 1962, и др.). Они детально исследовали влияние гормонов, гистаминов и других агентов на образование децидуом по сравнению с нормально развивающейся децидуальной реакцией. Изменения в эндометрии могут быть разделены на несколько последовательных фаз, каждая из которых характеризуется своими особенностями. Во время первой фазы происходит сенсибилизация эндометрия по всей длине рога матки; во время второй фазы необходима индукция, вызывающая образование децидуальных клеток. Следующая фаза характеризуется развитием децидуальной реакции и дифференцировкой децидуальных клеток.

Согласно нашим наблюдениям, во время имплантации зародыша крысы на 6-е сут развития локальный ответ со стороны эндометрия состоит в быстром росте, приводящем к образованию глубоких складок и формированию имплантационной камеры, изолирующей зародыш от просвета рога матки (рис. 1; табл. I, а; II, а). В состав имплантационной камеры входят дифференцирующиеся децидуальные клетки и кровеносные сосуды эндометрия. Дифференцировка децидуальных клеток из соединительнотканых происходит постепенно. Вначале, на 6-е сут, заметно увеличиваются в размерах три-четыре ряда субэпителиальных клеток, окружающих латеральную и антимезометральную части имплантационной камеры, вместе с заключенной внутри нее бластоцистой (табл. I, а). Ядра децидуальных клеток округляются, возрастает масса базофильной цитоплазмы, и одновременно уменьшаются межклеточные пространства; в результате этого крупные децидуальные клетки, несколько вытянутые параллельно длинной оси имплантационной камеры, образуют вокруг нее плотный слой клеток (табл. I, б). Снаружи располагается зона клеток переходного типа — имеющих звездчатую форму и отделенных друг от друга широкими межклеточными пространствами (табл. I, в). В этой отечной части стромы видны многочисленные капилляры. На периферии слизистой оболочки лежат веретеновидные соединительнотканые клетки (табл. I, г). Для этой стадии характерно появление митозов в клетках эндометрия, особенно в латеральной и антимезометральной областях. Чаще всего митозы встречаются в переходной зоне (табл. I, в), реже — в децидуальных клетках (табл. I, д). Митозы многочисленны и в эндотелии кровеносных сосудов (Зыбина, 1958а).

Зона децидуальных клеток, окружающих имплантационную камеру, в последующие дни беременности постепенно расширяется и распространяется в латеральную и мезометральную зону, образуя decidua basalis. Процесс преобразования соединительнотканых клеток сопровождается активной пролиферацией; митозы встречаются по всей толще слизистой оболочки в зоне имплантации, но наиболее многочисленны митозы в зоне трансформации соединительнотканых клеток в децидуальные. В ходе последовательной дифференцировки децидуальных клеток их зона все более расширяется за счет превращения клеток переходной зоны эндометрия в децидуальные. Максимального развития децидуальная оболочка достигает у крысы на 10-е сут беременности. К этому времени завершается дифференцировка децидуальных клеток в decidua capsularis, после чего в ней происходят постепенные процессы дегенерации. Цитоплазма клеток становится эозинофильной, ядра пикнотизируются и распадаются. Тем не менее рост decidua basalis еще продолжается вследствие развития сосудистой системы и превращения соединительнотканых клеток в децидуальные. Последние сохраняются до конца беременности.

Автораддиографическое исследование децидуальной реакции у мыши показало, что начиная с 7-х сут развития количество меченых ядер в децидуальных клетках постепенно уменьшается и к 12-м сут митозы полностью прекращаются (Atlas et al., 1960). Если на 8-е сут 40 % ядер включают ^3H -тимидин, то на 12-е сут меченые ядра отсутствуют.

Изучение децидуальных клеток мыши на начальных этапах их формирования показало, что в толще эндометрия усиленная пролиферация начинается под эпителием имплантационной камеры и постепенно перемещается к периферии слизистой оболочки матки (Жинкин, Самошкина, 1967). В этом отношении данные автордиографических исследований, проведенных на мыши, полностью подтвердили результаты цитоморфологических наблюдений, проведенных на зародышах крысы (Зыбина, 1958а).

Интересные выводы были сделаны Л. Н. Жинкиным и Н. А. Самошкиной (1967) при изучении пролиферативной активности децидуальных клеток методом автордиографии. По мнению этих авторов, в ходе формирования имплантационной камеры пополнение массы децидуальных клеток осуществляется за счет клеток переходной зоны эндометрия, которые постоянно мигрируют с периферии эндометрия к центру, в сторону зародыша.

Среди децидуальных клеток встречались крупные полиплоидные клетки. Наличие полиплоидных клеток предполагали еще Закс и Железняк (Sachs, Shelesnyak, 1955), ссылаясь на крупные размеры клеток и наличие многополюсных митозов. Полиплоидная природа децидуальных клеток позднее была доказана нашими исследованиями (Зыбина, Грищенко, 1970) на крысе, а также наблюдениями других исследователей на мыши (Ansell et al., 1974).

Остановимся на значении децидуальных клеток. Они возникают при имплантации зародыша в слизистую оболочку матки локально, в месте будущего контакта трофобласта с клетками эндометрия. Рост децидуальных клеток сопровождается накоплением в цитоплазме гликогена и липидных включений (Krehbiel, 1937), повышением синтеза РНК и белка (Shelesnyak, Tic, 1963). Значительная часть децидуальных клеток подвергается литическому растворению и распаду, остатки их захватываются и перевариваются трофобластом внутриклеточно. Следовательно, децидуальные клетки служат для питания зародыша (Bridgman, 1948a, 1948b; Жемкова, 1956; Зыбина, 1958a, 1960; Заварзин, Самошкина, 1967). Кроме того, они образуют мощный барьер, который препятствует клеткам трофобласта, обладающим ярко выраженными инвазивными свойствами, разрушать стенку матки. В тех случаях, когда имплантация зародыша происходит в яйцевode (при внематочной беременности), в эндометрии которого не образуется децидуальных клеток, трофобласт проникает через слизистую оболочку, вскрывает кровеносные сосуды и приводит к обширным кровотечениям (Винников, Прейсман, 1957). Таким образом, защитная функция децидуальной ткани несомненна. Некоторые специфические свойства децидуальных клеток, способствующие осуществлению этой функции, будут рассмотрены в гл. 9.

Активная роль клеток трофобласта в процессах имплантации и плацентации

Морфологи конца XIX и начала XX века основное значение в имплантационном процессе приписывали зародышу. К такому выводу пришли А. А. Максимов (1900), К. П. Улезско-Строганова (1895, 1896), Шпе (Spee, 1901) и некоторые другие на основании того, что трофобласт обладает хорошо выраженной способностью растворять (лизировать) материнские ткани и фагоцитировать разрушенные клетки.

Чтобы доказать существенное значение зародыша в процессе возникновения и развития децидуальной реакции, Бландау и Рамерн (Blandau, 1949; Blandau, Rumery, 1957) заново перенесли имплантацию у морской свинки. Так же как и Шпе (Spee, 1909), в свободнoleжащей бластоцисте они обнаружили разрастание клеток трофобласта на абэмбриональном полюсе, т. е. на том полюсе, который при имплантации первым прилегает к слизистой оболочке матки. В этих клетках появлялись цитоплазматические выросты, которые проникали через прозрачную оболочку. Несколько позднее этим же полюсом осуществлялся контакт бластоцисты со слизистой оболочкой матки; при этом локально, в месте прикрепления зародыша, наблюдались растворение и пикноцитоз эпителиальных клеток и ядер, а впоследствии и клеток стромы. На основании

этих данных Бландау предположил, что трофобласт выделяет литические вещества, разрушающие материнские ткани.

Для выявления протеолитических ферментов, выделяемых клетками трофобласта морской свинки (на 6—8-е сут беременности) и крысы (на 5—6-е сут), зародыши помещались на белковый субстрат и культивировались при температуре 37 °С. Под влиянием бластоцисты отмечалось растворение белковой пленки у морской свинки. Этого не было обнаружено у крысы (Blandau, 1949; Owers, Blandau, 1968; Owers, 1970). Различия в действии протеолитических ферментов на слизистую оболочку матки, по мнению авторов, связаны с различиями способов имплантации у этих двух видов грызунов и соответственно протекания децидуальной реакции.

О выделении трофобластом лизирующих веществ имеются сообщения многих авторов, которые наблюдали это явление у зародышей человека и различных видов грызунов (человек — Улезско-Строганова, 1939; Wislocki, Bennet, 1943; Hertig et al., 1956; Кнорре, 1969, и др.; обезьяна — Wislocki, Bennet, 1943; мышь — Fawcett et al., 1947; крыса — Alden, 1948; хомячок — Ward, 1948; Orsini, 1954; кролик — Максимов, 1925; Жемкова, 1956; Boving, 1963, и др.). В более поздних работах было показано, что трофобластом секретируются протеолитические ферменты, причем их активность в основном проявляется на поверхности бластоцисты (Kirchner, 1972; Denker, 1974a, 1974b).

Многие авторы отмечали фагоцитарную активность трофобласта при имплантации и плацентации зародышей (кролик — Максимов, 1898, 1900, 1925; Жемкова, 1956; мышь — Литвер, 1929; Snell, 1941; Fawcett et al., 1947; крыса — Alden, 1948; Bridgman, 1948a, 1948b; Зыбина, 1955, 1956; хомячок — Ward, 1948; Orsini, 1954; американская землеройка — Wislocki, Wimsatt, 1947; человек — Улезско-Строганова, 1896; Жемкова, 1956, и др.). Уже в начальный период имплантации бластоцисты крысы гигантские клетки трофобласта способны активно растворять и фагоцитировать эпителиальные клетки, выстилающие имплантационную камеру. Остатки захваченных клеток, находящиеся в цитоплазме, окружены светлой зоной и, по-видимому, подвергаются внутриклеточному перевариванию (Alden, 1948). Цитоплазма гигантских клеток трофобласта хомячка может содержать эритроциты и захваченные остатки дегенерирующих децидуальных тканей (Ward, 1948; Orsini, 1954). Некоторые авторы наблюдали, что клетки трофобласта разрушают кровеносные сосуды эндометрия. Около зародыша образуются обширные экстравазаты материнской крови, форменные элементы которой захватываются трофобластом (Snell, 1941). В одной клетке трофобласта зародыша мыши можно проследить различные этапы фагоцитарной активности: в крупных периферических вакуолях обнаружены захваченные эритроциты, в то время как небольшие вакуоли, содержащие эозинофильные гранулы и являющиеся, по мнению исследователей, продуктом переваривания эритроцитов, располагаются внутри клетки (Литвер, 1929). Сходные морфологические картины фагоцитоза наблюдали Вислоккий и Вимсат (Wimsatt, Wislocki, 1947; Wislocki, Wimsatt, 1947) в трофобласте американской землеройки. Эритроциты располагаются обычно вблизи свободного края цитоплазмы, в то время как продукты их распада локализованы в более глубоких частях клетки.

Интересно, что клетки трофобласта во многих случаях оказываются более жизнеспособными, чем собственно зародыш — это проявляется как в случае спонтанной гибели зародышей, так и в некоторых экспериментальных условиях. В тех случаях, когда зародыши погибают, в участках рога матки, где они ранее находились, сохраняется полость, содержащая эктоплацентарный конус, свободные гигантские клетки трофобласта, излившуюся материнскую кровь и клетки желточной энтодермы. Гигантские клетки трофобласта остаются жизнеспособными и, так же как у неповрежденных зародышей, содержат в цитоплазме поглощенные эритроциты и остатки децидуальных клеток (Drog-leeve, 1919).

Фагоцитарная активность свойственна клеткам трофобласта не только при нормальном развитии зародыша, но и при искусственном культивировании бластоцисты и ее трансплантации в некоторые ткани. В условиях культуры зародыш погибает, но гигантские клетки трофобласта способны растворять

и фагоцитировать даже клетки самого зародыша, поскольку материнские ткани отсутствуют (Максимов, 1925). Фагоцитоз наблюдался в клетках трофобласта, развивающихся в результате перенесения яйцеклеток мыши в переднюю камеру глаза и в брюшную полость. В данных условиях наблюдается начальная дифференцировка внутренней клеточной массы, но особого развития достигает трофобласт, клетки которого содержат захваченные эритроциты, находящиеся на разных стадиях внутриклеточного переваривания (Fawcett et al., 1947; Runneg, 1947).

Если в только что рассмотренных случаях клетки трофобласта в случае контакта с клетками эндометрия матки всегда сохраняют клеточное строение, то в случае имплантации бластоцисты кролика трофобласт, обладая большой гистолитической активностью, разрушает эпителий, резорбирует его и проникает в подлежащий слой слизистой оболочки матки, где он лизировывает поверхностный слой соединительнотканых клеток и капилляров. При соприкосновении с материнской кровью клетки трофобласта сливаются друг с другом и образуют плазмодий (Жемкова, 1956). Но вместе с тем в антимезометральной зоне присутствует большое число гигантских одноядерных клеток трофобласта.

В цитоплазме некоторых многоядерных и одноядерных клеток были обнаружены частицы материнских тканей, эритроциты и лейкоциты. Часто внедряющийся в материнские ткани трофобласт оказывался окружен густыми роями лейкоцитов (Максимов, 1898, 1900). В тех участках, где лейкоциты располагались на поверхности плазмодия, А. А. Максимов видел, как некоторые из них активно проникали в тело клетки, где они впоследствии переваривались. Автор считал, что многоядерные плазмодии трофобласта являются настоящими макрофагами. Сходные картины описала З. П. Жемкова (1956), изучая имплантацию и развитие плаценты кролика на последовательных стадиях развития. В цитоплазме гигантских клеток ею были найдены частицы дегенерирующих материнских тканей, лейкоциты и эритроциты.

Однако, несмотря на то что во многих работах отмечалась способность клеток трофобласта лизировать прилежащие клетки и обращалось внимание на их фагоцитарную деятельность, эти данные носили фрагментарный характер; еще не было проведено последовательного изучения фагоцитарной активности на протяжении всего периода беременности, начиная с момента имплантации. Такая задача была поставлена нами в связи с гипотезой Б. П. Токина (1955) о том, что возникающие в ходе эмбрионального развития фагоцитарные реакции могут иметь определенное значение для различных процессов формообразования. В более общей форме этот вопрос имеет прямое отношение к интенсивно развиваемой в последние годы концепции о запрограммированной клеточной смерти, как об одном из факторов морфогенеза (Lockshin, Pexider, 1975). Особое внимание мы уделяли изучению соотношения между динамикой проявления клетками трофобласта инвазивных и фагоцитарных свойств и особенностями дифференцировки этих клеток, пытаясь выяснить роль и дальнейшую судьбу различных клеточных популяций в ходе внедрения зародыша в стенку матки и последующего формирования плаценты.

Прежде чем перейти к описанию фагоцитарной деятельности гигантских клеток трофобласта, следует остановиться на терминологии, так как различные популяции клеток трофобласта различаются по времени появления, своему расположению и функциональным особенностям. Снелл (Snell, 1941) и Олден (Alden, 1948) при изучении плаценты мыши и крысы разделили гигантские клетки трофобласта на первичные и вторичные. Первичные гигантские клетки появляются в ходе имплантации, они происходят из увеличенных клеток абэмбрионального и латерального трофобласта (на 6—7-е сут развития зародыша крысы). Их также называют антимезометральным трофобластом (Alden, 1948) или гигантскими клетками имплантации (Dickson, Bulmer, 1960). Несколько суток спустя появляются вторичные гигантские клетки (мезометральный трофобласт). У зародышей крысы они происходят из поверхностных клеток эктоплацентарного конуса и прилегают к мезометральной decidua (decidua basalis); эти клетки становятся многочисленными начиная с 9-х суток развития (табл. II, а). Впоследствии они будут представлять наружную часть фетальной хорио-аллантоидной плаценты и в отличие от первичных сохраняются до конца

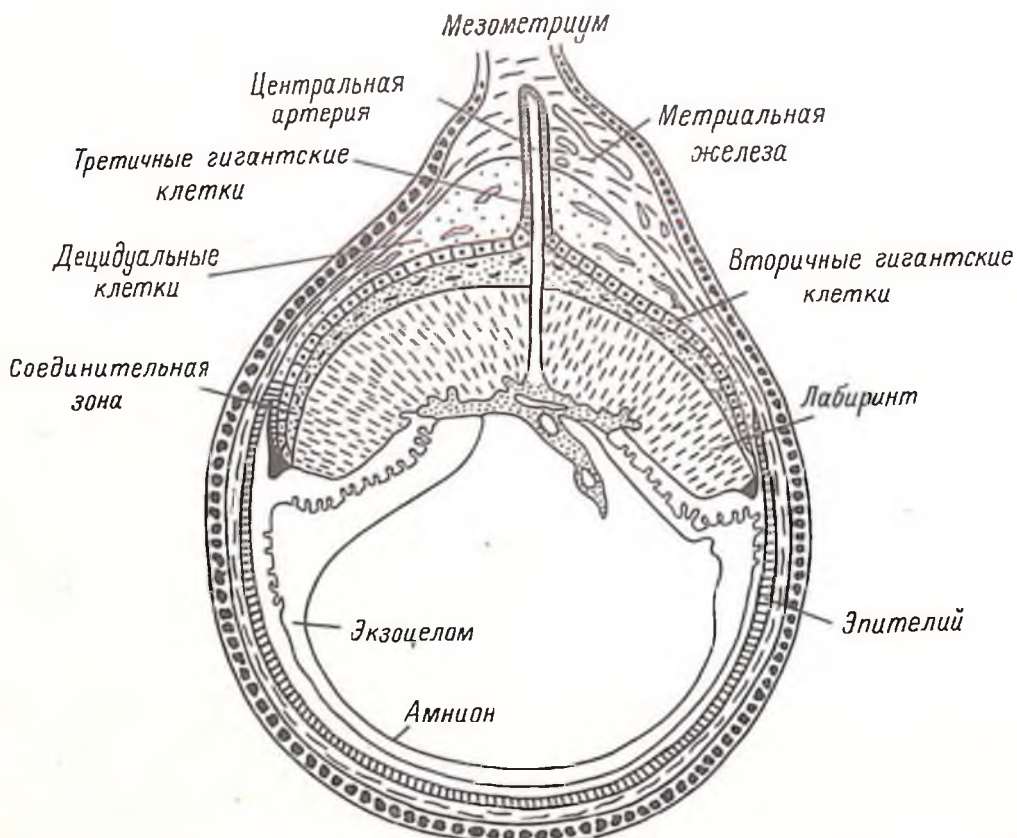


Рис. 2. Схема строения плаценты крысы на 14-е сут развития (по: Padycula, Richardson, 1963).

популяциями клеток трофобласта: третичными гигантскими клетками, выстилающими артериальный канал, вторичными гигантскими клетками, непосредственно граничащими с децидуальной тканью и лакунами, содержащими материнскую кровь, и клетками соединительного отдела плаценты (Жемкова, 1956; Anderson, 1959; Dickson, Bulmer, 1960, и др.), или губчатой зоной (спонгиотрофобластом), расположенной между зоной вторичных гигантских клеток и лабиринтом (Padycula, Richardson, 1963). Популяция клеток соединительного отдела плаценты долгое время сохраняет камбиальные свойства. Во многих местах соединительный отдел плаценты прорезан лакунами с материнской кровью. В сформированной плаценте этот отдел представлен большими скоплениями гликогенных клеток, окруженных трофобластом.

Согласно нашим наблюдениям, трофобласт соединительного отдела плаценты крысы вначале состоит из несколько варьирующих по величине не очень крупных клеток, плотно прилегающих друг к другу; отдельные клетки, ограничивающие лакуны с кровью, имеют значительно большую величину. Клетки этой зоны продолжительное время очень интенсивно делятся митозом, затем количество митозов резко падает (на 15-е сут развития), и на 16-е сут митозы уже не встречаются. В отличие от первичных и вторичных гигантских клеток клетки трофобласта соединительного отдела в плаценте крысы не являются фагоцитами. Трофобласт этой зоны сохраняется до конца беременности (Зыбина, Тихомирова, 1963; Зыбина, Грищенко, 1970).

Появление третичных гигантских клеток трофобласта происходит примерно в тот же период, что и популяции вторичных гигантских клеток. На 10-е сут развития начинается массовое выселение клеток трофобласта из верхней части эктоплацентарного конуса (табл. IV, а). Дифференцирующиеся третичные гигантские клетки заметно отличаются от клеток эктоплацентарного конуса тем, что имеют более округлые очертания и базофильную цитоплазму; они полностью высвобождаются из синцитиальной связи, характерной для клеток эктоплацентарного конуса в этот период. Особенностью третичных гигантских клеток трофобласта является еще более ярко выраженная, чем у вторичных

гигантских клеток, способность к миграции. Единичные клетки трофобласта или их скопления после отделения от эктоплацентарного конуса перемещаются по кровеносным сосудам в мезометральном направлении, удаляясь на значительное расстояние от конуса. Часть клеток трофобласта окружает снаружи эндотелиальную выстилку сосуда со стороны децидуальных клеток. Третичные гигантские клетки, выстраиваясь вдоль сосуда, плотно прилегают друг к другу и образуют как бы новую обкладку лакуны или сосуда (табл. IV). Они не делятся митозом; пополнение их происходит в основном за счет мигрирующих клеток эктоплацентарного конуса.

Обращает на себя внимание то обстоятельство, что, по-видимому, существует взаимосвязь между расположением третичных гигантских клеток и клеток метриальной железы в *decidua basalis* (Зыбина, 1981в). Клетки метриальной железы представляют собой малозученную до сих пор клеточную популяцию, происхождение которой выяснено еще не до конца. Они присутствуют в стенке матки во время беременности, после родов и в период лактации (Selye, McKeown, 1935; Baker, 1948). Как и децидуальные клетки, они возникают в зоне *decidua basalis*, по-видимому, из соединительнотканых клеток (Зыбина, 1958б; Dickson, Bulmer, 1961, и др.) и имеют ряд морфологических особенностей. Этой популяции клеток обычно приписываются трофическая, гормональная и защитная функции (Bridgman, 1948a, 1948b; Velardo et al., 1953; Bulmer, Peel, 1977).

На последующих стадиях развития (на 12—14-е сут) продолжается обособление и выселение третичных гигантских клеток из соединительной зоны плаценты. Если в ходе миграции третичные гигантские клетки и рассеиваются, то в очень незначительной степени и только в начальный период своего обособления. В основном перемещение третичных гигантских клеток ограничено центральной лакуной.

В результате продолжающейся миграции часть третичных гигантских клеток к 14-м сут достигает мышечной и серозной оболочек, где они выстраиваются вдоль стенок сосудов (табл. IV, б). В центральной части плаценты имеется довольно широкая длинная полость, заполненная кровью. Она начинается от мышечного слоя материнской части плаценты, проходит через *decidua basalis*, через все отделы фетальной части плаценты и у эмбриональной поверхности разветвляется на две части (рис. 2). Каждая из них сообщается с кровеносными лакунами лабиринта. Этот центральный артериальный канал приносит кровь в плаценту (Orsini, 1954; Жемкова, 1956).

Согласно нашим наблюдениям, в плаценте крысы внутренняя поверхность артериального канала на всем протяжении выстлана сплошным слоем третичных гигантских клеток. Весьма интересным, на наш взгляд, является то обстоятельство, что третичные гигантские клетки, мигрируя по стенке сосуда, способны перемещаться против тока материнской крови на большие расстояния. В отличие от вторичных гигантских клеток способность к фагоцитозу материнских тканей в третичных гигантских клетках мало выражена (Зыбина, 1981в).

Мы обратили внимание на то обстоятельство, что третичные гигантские клетки в плаценте крысы в отличие от остальных популяций трофобласта, входящих в состав зародышевой части плаценты, благодаря их быстрой миграции в глубь материнских тканей оказываются расположенными не только в зародышевой части плаценты, но и в материнской (рис. 2). Более того, третичные гигантские клетки по кровеносным сосудам могут даже выходить за пределы слизистой оболочки матки, для которой характерна децидуальная реакция. Клетки метриальной железы, появляющиеся не только в слизистой оболочке матки, но также в миометрии (табл. IV, б) и мезометрии, могут, вероятно, в известной мере служить заменой децидуальным клеткам, которые в слизистой оболочке матки осуществляют непосредственный контакт с клетками инвазирующего трофобласта (с первичными и вторичными гигантскими клетками) и, по-видимому, препятствуют быстрому проникновению трофобласта в эндометрий. На всем протяжении миграции третичных гигантских клеток трофобласта по кровеносным сосудам их сопровождают клетки метриальной железы. Если третичные гигантские клетки перемещаются по внутренним

стенкам кровеносных сосудов, то клетки метриальной железы окружают стенки сосудов снаружи, образуя вокруг них своеобразную муфту.

Резюмируя сказанное выше, следует подчеркнуть, что клетки трофобласта обладают способностью лизировать и фагоцитировать прилежащие к ним материнские клетки только в ограниченный период времени. Фагоцитарная активность трофобласта проявляется наиболее ярко в начальный период имплантации зародыша и продолжается в первичных гигантских клетках около 5 сут, т. е. до 11-х сут развития зародыша, во вторичных — несколько дольше (около 7 сут), и прекращается на 14—15-е сут беременности. Большой интерес представляют данные Саломона и Шермана (Salomon, Sherman, 1975), которые показали, что при культивировании бластоцисты мыши на монослое из клеток слизистой оболочки матки трофобласт остается жизнеспособным в течение 35 сут. Инвазивные же свойства проявлялись в клетках трофобласта только в первые 5—6 сут. Таким образом, имеется совпадение между проявлением фагоцитарных свойств и их утратой в трофобласте при нормальной имплантации зародыша и в культуре.

Внутри каждой из изученных клеточных популяций трофобласта белой крысы наблюдается качественное изменение характера фагоцитоза в ходе дифференцировки клеток. Так, первичные гигантские клетки на начальных стадиях имплантации зародыша захватывают эпителиальные и децидуальные клетки. Утратив способность к миграции, они становятся гемофагами. Будучи окруженными со всех сторон экстравазатами материнской крови, клетки трофобласта фагоцитируют преимущественно эритроциты материнской крови. Вторичные гигантские клетки вначале также захватывают эпителий, эндотелий и децидуальные клетки, а позднее (на 13—14-е сут) переходят преимущественно к «групповому фагоцитозу». Количественные различия в фагоцитарной деятельности клетки отчетливо выступают, если сравнить клетку трофобласта в начальный период развития зародыша, например на 7-е сут развития, и тогда, когда она становится гигантской, на 10-е сут. В первом случае в цитоплазме клетки трофобласта имеются одна-две вакуоли с фагоцитированными клетками, во втором — вся периферическая часть огромной высокополиплоидной клетки состоит из множества вакуолей, содержащих эритроциты на различных стадиях переваривания.

Сравнительное изучение фагоцитарной деятельности в разных клеточных популяциях трофобласта, а также у разных видов грызунов позволило обнаружить интересную закономерность в соотношении фагоцитарной активности клеток и их способности к репродукции митотическим путем.

У зародышей серой полевки, *Microtus subarvalis*,² как и у зародышей крысы, первичные и вторичные гигантские клетки трофобласта, контактирующие с генетически чужеродными материнскими тканями, не делятся митозом. Как первичные, так и вторичные гигантские клетки в ходе имплантации и плацентации зародышей способны к фагоцитозу прилежащих клеток: децидуальных и эритроцитов; в цитоплазму трофобласта проникают и лейкоциты (Зыбина, 1976б). Первичные гигантские клетки могут захватывать не только отдельные эритроциты (табл. V, а), но и целые их скопления, которые оказываются в цитоплазме клеток трофобласта внутри одной крупной вакуоли. Бывают случаи, когда ядро, обтекая скопление захваченных эритроцитов в пищеварительной вакуоли, приобретает форму не вполне правильного кольца (табл. V, б).

Клетки соединительной зоны плаценты серой полевки так же, как у зародышей крысы, длительное время способны делиться митозом, однако, в отличие от трофобласта крысы, они хотя и являются фагоцитами, но их фагоцитирующая способность ограничена. Соприкасаясь с форменными элементами материнской крови, эти клетки могут захватывать только эритроциты, но никогда не захватывают лейкоциты. Поскольку размеры клеток соединительного отдела плаценты невелики, они могут захватывать не более одного-двух эритроцитов. Митотическая активность в клетках-фагоцитах при этом не прекращается. Более того, присутствие эритроцитов в цитоплазме фагоцита не препятствует его

² Материал зародышей *Microtus subarvalis* был любезно предоставлен Е. Д. Схолль.

вступлению в митоз. Это подтверждается картинами фагоцитоза не только в интерфазных клетках (табл. V, в), но и в клетках, находящихся на разных стадиях митотического деления (метафазы, анафазы и телофазы; табл. V, г—е).

Из трех популяций клеток трофобласта серой полевки, активно фагоцитирующих чужеродные для них материнские клетки, только одна сохраняет способность делиться митозом — клетки соединительной зоны. Но фагоцитоз в этих клетках несколько отличается от такового в первичных и вторичных клетках, так как клетки соединительной зоны фагоцитируют исключительно эритроциты материнской крови, т. е. безъядерные клетки. Создается впечатление, что существует «запрет» для митоза в клетках-фагоцитах, захватывающих клетки с ядрами, содержащими генетически чужеродную ДНК.

Таким образом, способность к фагоцитозу в большинстве случаев совпадает с прекращением митотической активности клеток. В этом единственно известном случае, когда фагоцитирующие клетки обладают способностью делиться митозом, их фагоцитарная деятельность ограничена гемофагией. Мы склонны полагать, что это каким-то образом связано с защитной функцией клеток трофобласта, о чем более подробно будет сказано в гл. 9.

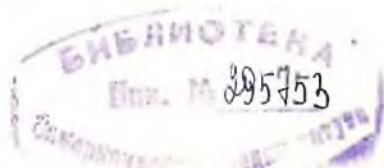
Значение фагоцитарной деятельности гигантских клеток трофобласта многообразно. Благодаря инвазивной и фагоцитарной активности первичных и вторичных гигантских клеток трофобласта осуществляется разрушение материнских тканей, что способствует внедрению зародыша в слизистую оболочку матки. Первичные и вторичные гигантские клетки активно захватывают в свою цитоплазму материнские клетки и, переваривая их внутриклеточно, выполняют другую функцию — трофическую (особенно отчетливо выраженную в первую половину беременности до формирования плаценты). Кроме того, трофобласт выполняет и третью функцию — санитарную, фагоцитируя остатки распадающихся клеток и очищая тем самым имплантационную полость от продуктов распада (Зыбина, 1958а; Зыбина, Тихомирова, 1963). Отчетливо проявляется защитная функция фагоцитоза.

Как мы видели, клетки трофобласта, инвазируя в глубь слизистой оболочки матки, не все остаются жизнеспособными: часть из них погибает под влиянием проникновения большого количества лимфоцитов (Зыбина, 1958а). Тем не менее этим обеспечивается защита большей части клеток инвазирующего трофобласта, а следовательно, и собственно зародыша от реакции отторжения со стороны стенки матки.

Межклеточные взаимодействия на начальных этапах имплантации зародыша и их значение при дифференцировке клеток трофобласта

В последние годы большое внимание уделяется изучению взаимоотношений между трофобластом имплантирующегося зародыша и эпителием, выстилающим имплантационную камеру, а также клетками субэпителиальной стромы. Такие исследования проводятся на электронно-микроскопическом уровне. Этот вопрос о взаимодействии клеточных компонентов зародыша и стенки матки важен не только с точки зрения изучения механизма имплантации (в частности, путем возникновения клеточных контактов), но и для выяснения особенностей дифференцировки клеток трофобласта.

Изучение взаимодействия между трофобластом и эпителием в ходе имплантации показало, что в одних случаях контакт бластоцисты с эндометрием осуществляется клеточным трофобластом (мышь — Enders, Schlafke, 1965; осуществляется клеточным трофобластом (мышь — Enders, Schlafke, 1969; Tachi et al., Reinius, 1967; Smith, Wilson, 1974; крыса — Enders, Schlafke, 1969; Tachi et al., 1970; золотистый хомячок — Young et al., 1968) или же плазмоднальным трофобластом (кролик — Larsen, 1961; Enders, Schlafke, 1969; Steer, 1971; морская свинка — Enders, Schlafke, 1969). В первом случае во время начальной стадии прикрепления бластоцисты (attachement stage) клетки трофобласта контактируют с эпителием в основном при помощи микроворсинок. Цитоплазматические мембраны трофобласта располагаются параллельно таковым эпителиальных



клеток, но между ними имеется щель диаметром 20—30 нм (Smith, Wilson, 1974), которая заполнена многочисленными микроворсинками, отходящими от клеток трофобласта и эпителия. Согласно данным Эндерса и Шлафке (Enders, Schlafke, 1969), расстояние между трофобластом и эпителием всегда меньше, чем длина микроворсинок краевых клеток трофобласта, но больше, чем нормальное расстояние между клеточными мембранами внутри эпителиального слоя. Клетки трофобласта растянуты, и каждая покрывает четыре-шесть эпителиальных клеток.

Во время перехода к средней прикрепительной стадии зародыша — стадии прилипания (*adherence stage*) — ворсинки уплощаются, принимают неправильные очертания и исчезают, цитоплазматические мембраны клеток трофобласта и эпителия плотно прилегают друг к другу. В отдельных участках в местах прилегания видны десмосомы (Potts, 1966, 1969; Enders, Schlafke, 1969), *gap junction* (Potts, 1966; Tachi et al., 1970), а также промежуточные соединения (Enders, Schlafke, 1969; Smith, Wilson, 1974).

Далее следует стадия инвазии, во время которой клетки трофобласта и эпителия утрачивают тесное присоединение, взаимосвязь между цитоплазматическими мембранами становится неполной, появляются обширные области, где два слоя идут параллельно друг другу. Во многих местах клетки трофобласта постепенно начинают проникать между эпителиальными клетками и доходят до базальной мембраны; окруженные эпителиальными клетками, клетки трофобласта иногда втягивают их в свою цитоплазму. В эпителии видны признаки начавшейся дегенерации (Finn, Lawn, 1968; Potts, 1968; Tachi et al., 1970; Wilson, Smith, 1970). Это стадия дезорганизации (Smith, Wilson, 1974), после которой начинается активный фагоцитоз.

Сходные картины начальных межклеточных взаимодействий между клетками трофобласта и эпителия стенки матки наблюдались и при гетерологической трансплантации бластоцисты крысы в рог матки псевдобеременной мыши. На начальных этапах соприкосновения бластоцисты с эпителием стенки матки и при последующей инвазии трофобласта ход событий тот же самый, что и при нормальной имплантации. Клетки трофобласта и эпителиальные клетки устанавливают тесный контакт с образованием комплексов *gap junction*, промежуточных и типа десмосом (Tachi, Tachi, 1979). Однако последующая стадия является критическим периодом в нормальном протекании процесса имплантации зародыша. После того как трофобласт разрушит эпителиальную обкладку имплантационной камеры и начнет проникновение через базальную мембрану, начинается дегенерация бластоцисты гетерологических зародышей (Tachi, Tachi, 1979). Эти факты чрезвычайно интересны, так как они конкретизируют на цитологическом уровне теорию П. Г. Светлова (1960) о критических периодах. Согласно этой теории, в развитии зародышей существуют моменты, когда организм особенно чувствителен к повреждающим воздействиям. У млекопитающих такими периодами являются имплантация и плацентация, при которых происходит формирование плода и органов, обеспечивающих связь зародышей с материнским организмом. Отторжение гетерологических зародышей происходит, таким образом, во время первого критического периода, когда на ультраструктурном уровне обнаруживается невозможность осуществления имплантации на стадии проникновения клеток трофобласта в строму эндометрия и фагоцитирования распадающихся материнских клеток.

Изучение начального периода имплантации бластоцисты кролика показало, что в этом случае трофобласт ведет себя различно. Часть клеток трофобласта быстро проникает через эпителий и разъединяет клетки последнего; отростки пронизывают базальную мембрану и проходят под эпителиальный слой (Enders, Schlafke, 1969; Steer, 1971). В других участках трофобласт бластоцисты кролика при соприкосновении с маточным эпителием превращается в синцитий и также проникает под эпителиальный слой (Larsen, 1961; Steer, 1971). В таких случаях между плазмодинальным трофобластом и прилежащими эпителиальными клетками эндометрия также образуется тесное соединение, на значительном протяжении граничащих клеток видны десмосомы (Enders, Schlafke, 1969). По мнению Эндерса и Шлафке, синцитиальный трофобласт обладает большей инвазивной активностью в ходе имплантации бластоцисты, чем клеточный, он очень

быстро проходит через базальную мембрану эпителиального слоя. Синцитиальный трофобласт возникает не только у кролика, он описан в бластоцисте морской свинки, хорька, броненосца, а также у человека. В бластоцисте летучей мыши трофобласт становится двухслойным и наружный слой, осуществляющий имплантацию, также приобретает синцитиальное строение (Enders, Schlafke, 1969). По мнению этих авторов, способность трофобласта образовывать соединение с эпителием имеет большое значение для процесса имплантации зародыша, в значительной степени облегчает его проникновение в глубь материнских тканей эндометрия.

Многие исследователи, изучавшие взаимодействие между трофобластом и эпителием в ходе имплантации зародыша на субмикроскопическом уровне, отмечают фагоцитарную активность клеток трофобласта в этот период. Цитоплазматические отростки трофобласта, обычно содержащие небольшое количество органондов или почти не содержащие их, проникают между эпителиальными клетками, а затем втягивают отдельные клетки в свою цитоплазму (Potts, 1968; Finn, Lawn, 1968; Enders, Schlafke, 1969; Smith, Wilson, 1974). В периферической зоне трофобласта отмечено в это время увеличение количества лизосом. В некоторых случаях эпителиальные клетки, прилежащие к трофобласту, почти не изменены (Enders, Schlafke, 1969), более того, даже захваченные эпителиальные клетки иногда выглядят интактными и не сразу обнаруживают заметные признаки дегенерации (Tachi, Tachi, 1979). Это свидетельствует о том, что трофобласт может захватывать в свою цитоплазму не только дегенерирующие клетки.

В последнее десятилетие появилась целая серия работ, авторы которых с помощью сканирующего электронного микроскопа пытаются найти новые подходы к выяснению вопроса о взаимодействии клеток трофобласта и эпителиальных клеток поверхностного слоя рога матки в месте имплантации бластоцисты у ряда грызунов (Spindle, Pedersen, 1973; Schlafke, Enders, 1975; Schalgi, Sherman, 1979, и др.). При этом они стремятся выявить изменения структуры клеточной поверхности, начиная с периода, предшествующего имплантации (еще до растворения прозрачной оболочки), и до периода инвазии трофобласта. Такого рода исследования проводились как в условиях *in vivo* (Bergstrom, 1972), так и на разработанной в последние годы модели — бластоцистах, культивируемых на монослое клеток матки в условиях *in vitro* (Salomon, Sherman, 1975). Данная методика позволяет более детально проследить за динамикой поверхностной ультраструктуры трофобласта в ходе имплантации на субстрате, свободном от сокращающихся складок, которые присутствуют обычно в роге матки *in utero* и мешают изучению поверхностных структур клеток. Эти исследования позволили обнаружить следующие закономерности: поверхность клеток трофобласта может изменять форму, которая соответствует двум фазам: фазе сокращения (*contraction phase*) и фазе расслабления или растяжения клеток (*expansion phase*). В первом случае клетки трофобласта становятся разбухшими и содержат большое количество микроворсинок, во второй фазе поверхность клеток трофобласта имеет сильно уплощенный вид, короткие микроворсинки редко встречаются или варьируют в числе, лишь на границах между соседними бластомерами заметны ряды микроворсинок — так называемые межклеточные гребешки.

Оказалось, что фаза сокращения характерна для клеток трофобласта в период, предшествующий сбрасыванию прозрачной оболочки (*zona pellucida*), а также тогда, когда трофобласт приобретает инвазивные свойства и бластоциста начинает расти. Фаза расслабления присуща бластоцистам, сбросившим прозрачную оболочку, но еще не прикрепившимся к субстрату, а также тем бластоцистам, которые только что присоединились к монослою клеток матки (стадия прикрепления бластоцисты).

На основании этих исследований было сделано предположение, что межклеточные гребешки из микроворсинок играют, по-видимому, определенную роль в проявлении адгезивных свойств бластоцисты, причем приобретение адгезивных свойств клетками трофобласта рассматривается как важный этап дифференцировки этих клеток (Salomon, Sherman, 1975). Шалги и Шерман (Schalgi, Sherman, 1979) предлагают считать, что клетки трофэктодермы

превращаются в трофобласт в то время, когда внешняя поверхность бластоцисты становится адгезивной как *in vivo*, так и *in vitro*.

Существуют и некоторые другие данные о том, что свойства клеточной поверхности в некоторой степени могут определять момент дифференцировки клеток трофобласта. Так, при культивировании клеток трофобласта на бактериологическом градиенте, начиная с очень ранних стадий развития (ранняя бластоциста), превращение их в гигантские клетки происходит лишь тогда, когда они искусственно дезагрегированы друг от друга и сохраняется лишь минимальное количество клеточных контактов (Ilgren, 1981). Следовательно, утрата клетками трофобласта контактов друг с другом является как бы одним из сигналов к началу дифференцировки гигантских клеток трофобласта. Интенсивный рост гигантских клеток наблюдается и при культивировании агрегатов клеток трофобласта на монослое тканевой культуры, а также при трансплантации их под капсулу тестиса (Ilgren, 1981). В поведении клеток трофобласта в условиях культуры наблюдается значительное сходство с тем, что происходит при имплантации *in utero*. В самом деле, в самом начале дифференцировки клеток трофобласта их поверхность обладает значительными адгезивными свойствами, для них характерно образование клеточных контактов как со своими соседями, так и с клетками эпителиальной выстилки рога матки. В период же активной инвазии клеткам трофобласта свойственно утрачивать тесные контакты с другими клетками, что способствует их активному проникновению в чужеродную для них ткань и значительному их обособлению друг от друга.

Вполне вероятно, что в условиях контакта с чужеродными тканями (как при их культивировании на монослое клеточной культуры и при трансплантации агрегатов клеток трофобласта в другие органы, так и в случае нормальной инвазии в стенку матки), способность к дифференцировке гигантских клеток проявляется в большей степени из-за возможности активного проникновения в прилежащие ткани.

ПОЛОВОЙ ХРОМАТИН И ЕГО ЗНАЧЕНИЕ ПРИ ИССЛЕДОВАНИИ ПРОЦЕССОВ РАННЕГО РАЗВИТИЯ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Появление телец полового хроматина в ядрах клеток зародышей приурочено к тем стадиям развития, когда начинается дифференцировка клеток трофобласта и эмбриобласта, что связано с началом функционирования генома самого зародыша. Именно в этот момент в онтогенезе млекопитающих происходит определение того, какая из X-хромосом — материнская или отцовская — будет инактивирована в каждой из клеток зародыша, а также в многочисленных клеточных поколениях, которые произойдут из этих клеток и войдут в состав различных органов и тканей. Важно отметить, что в клетках трофобласта и собственно зародыша, как будет показано ниже, предопределение инактивации X-хромосомы протекает принципиально по-разному. Это в свою очередь имеет большое значение для дифференцировки клеток трофобласта в связи с их функциональными особенностями, а также для формирования в достаточной степени сбалансированной системы экспрессии генов в организме. В связи с этим представляется важным специально рассмотреть вопрос о природе полового хроматина и об условиях и времени инактивации половых хромосом, тем более что на этот счет в литературе имеется много интересных данных.

История открытия и природа полового хроматина

Одной из характерных структур интерфазного ядра клеток женских особей млекопитающих является так называемое тельце Барра, или половой хроматин — компактная глыбка конденсированного хроматина, находящаяся, как правило, вблизи ядерной оболочки. В настоящее время известно, что тельце Барра представляет собой не что иное, как инактивированную половую хромосому.

Тогда как значительная часть хромосомного материала клетки в период интерфазы находится в деконденсированном состоянии, вследствие чего невозможно идентифицировать различные хромосомы, тельце Барра остается в конденсированном состоянии и может являться своего рода маркером интерфазного ядра, позволяющим судить о поведении отдельных хромосом набора. Особенно это перспективно, на наш взгляд, при изучении механизмов полиплоидизации ядер, в частности, при эндоредупликации хромосом, т. е. в случае, когда клетки не входят в митоз и постоянно находятся в состоянии интерфазы. Изучение полового хроматина представляет несомненный интерес с позиций самых разных проблем — исследования структурной и функциональной организации хромосом, изучения поведения хромосом в онтогенезе и на разных стадиях клеточного цикла и ряда других вопросов.

Половой хроматин был открыт в 1949 г. Барром и Бертрамом (Barr, Bertram, 1949) при изучении хроматолиза моторных нейронов кошки, вызванного продолжительной стимуляцией электрическим током. При этом внимание исследователей привлекло присутствие в интерфазных ядрах хорошо заметных хроматиновых масс, которые встречались только у женских особей. Эти хроматиновые тельца стали называть половым хроматином, так как по их наличию можно определить пол животного, а впоследствии — тельцами Барра (табл. VI, в, г).

Наблюдаемый в интерфазных ядрах половой хроматин представляет собой,

как правило, тельце размером около 1 мкм в диаметре, имеющее плоско-выпуклую, реже — V-образную, треугольную или гантелеобразную форму (Зыбина, 1959; Зыбина, Тихомирова, 1965). Известны три типа расположения полового хроматина в ядре: на внутренней поверхности ядерной мембраны (табл. VI, г, е, ж), вблизи ядрышка, а также свободно в карิโอплазме.

Имеются наблюдения, показывающие, что положение телец полового хроматина может изменяться в зависимости от функционального состояния клетки. Так, например, в клетках подъязычного ядра у кошки при восстановлении тигроидного вещества после длительного раздражения подъязычного нерва наблюдалось увеличение ядрышка и перемещение массы полового хроматина от ядрышка к ядерной оболочке. Нормальное положение восстанавливалось через 400 ч (Lindsay, Barr, 1955).

Кроме того, обнаружено изменение положения полового хроматина в ядрах в ходе онтогенеза. Согласно данным Грэхема (Graham, 1954), на ранних эмбриональных стадиях развития кошки половой хроматин в нейробластах и нейронах локализуется на ядерной оболочке, а после рождения — около ядрышка. В других же соматических клетках наблюдалось обратное: в первые месяцы в 20 % клеток половой хроматин находился по соседству с ядрышком, к концу беременности более типичным было положение на ядерной оболочке, как у взрослых животных. Грэхем полагает, что такие изменения локализации полового хроматина связаны с дифференцировкой. Другого, более точного объяснения механизма этого весьма интересного явления в настоящее время, к сожалению, дать нельзя.

Барр и его сотрудники, понимая, что их наблюдения имеют важное общебиологическое значение, провели изучение полового хроматина в различных тканях у кошки и у других животных. Согласно результатам такого рода исследований, половой хроматин обнаруживается в клетках различных тканей человека, обезьян и многих других животных (более 30 видов млекопитающих, около 10 видов птиц, некоторые рептилии и амфибии, многие насекомые и некоторые беспозвоночные — Moore, 1962, и др.; см. также обзор: Зыбина, Тихомирова, 1965). Половой хроматин описан также у растений (Shimizu, 1961; Kusanagi, 1963; Zuk, 1969, и др.).

Глибки полового хроматина обнаружены в различных органах и тканях: нервная ткань, печень, двенадцатиперстная кишка, гладкие мышцы, хрящ, эпидермис, сердце, кора надпочечников, панкреатическая железа, амниотическая жидкость, трофобласт, зародышевые оболочки и др. (см. обзор: Зыбина, Тихомирова, 1965). При этом у разных животных наиболее удобными для идентификации полового хроматина могут быть различные ткани. Так, у большинства животных (за исключением грызунов и домашней птицы) половой хроматин хорошо выявляется в нервных тканях. У грызунов трудно или почти невозможно выявить тельца полового хроматина в тканях взрослых животных из-за присутствия в интерфазном ядре большого числа хромоцентров, которые маскируют тельца Барра (Hinrichsen, Gothe, 1958; Reitalu, 1958). Напротив, в раннем эмбриогенезе и у грызунов (как в клетках эмбриобласта, так и трофобласта) можно выявить тельца полового хроматина (Austin, Amoroso, 1957; Park, 1957; Зыбина, 1960, 1964; Austin, 1962, и др.).

Ряд прямых и косвенных данных свидетельствует о хромосомной природе полового хроматина. В частности, на это указывает Фельген-положительная реакция телец Барра, реакция с метиловым зеленым, прямая пропорциональность числа телец полового хроматина степени пloidности ядра (Klinger, Schwarzscher, 1958, 1960) и другие данные. Присутствие полового хроматина лишь в ядрах женских особей указывает на связь полового хроматина с половыми хромосомами.

Наблюдения профазных ядер регенерирующих клеток печени крысы показали, что в гетеропикнотическом состоянии бывает только одна X-хромосома (Ohno et al., 1959; Ohno, Henschka, 1960) (табл. VI, б, д). На основании данных такого рода сформировалось представление о том, что половой хроматин образуется лишь одной X-хромосомой (Grumbach, Morishima, 1962). На это указывают также следующие факты: у XXX-женщин и у мужчин типа XXXY видны два тельца полового хроматина; женщины XO не имеют в ядрах телец

полового хроматина, а XX-женщины и ХХУ-мужчины несут лишь по одному телу полового хроматина. Другими словами, в интерфазном ядре число телец Барра на одно меньше, чем число Х-хромосом (Вагг, 1959; Прокофьева-Бельговская, 1963). Данные более поздних исследований также подтверждают это предположение. С помощью метода дифференциального окрашивания было установлено, что у многих видов грызунов одна из Х-хромосом диплоидного набора в тканях женских особей окрашивается более интенсивно, чем другая, сохраняя при этом характерную исчерченность (Kanda, Yosida, 1978).

Для объяснения функционального значения полового хроматина Лайон (Lyон, 1961) выдвинула гипотезу, согласно которой у млекопитающих инактивация и гетерохроматизация одной из Х-хромосом в интерфазных ядрах женских особей необходима для уравнивания дозы активных генов, локализованных в Х-хромосоме у мужских и женских особей. Поэтому явление инактивации одной из Х-хромосом в клетках женского организма иногда называют эффектом Лайон или лайонизацией. Для проверки этого предположения цитологические исследования полового хроматина были дополнены анализом проявления сцепленных с полом признаков в гетерозиготном организме. Было замечено, что у мышей, гетерозиготных по генам, сцепленным с полом и определяющим окраску шерсти, наблюдается мозаицизм в проявлении признака: одни участки шерстного покрова имеют одну окраску, другие — другую (Lyон, 1961, 1963, 1974). Это позволило высказать предположение, что в разных клетках одного женского организма инактивированными являются разные по происхождению Х-хромосомы и, следовательно, проявляется активность генов, локализованных то в одной, то в другой из них.

Гипотеза Лайон получила подтверждение и при исследовании экспрессии генов, локализованных в Х-хромосоме, с использованием методов оценки активности ферментов. Так, при исследовании активности фермента глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в эритроцитах крови мужчин и женщин с нормальным и аномальным числом половых хромосом (X0, XXX, XXXX, ХХУ, ХХХУ, ХУ, ХХ) оказалось, что активность фермента везде примерно одинакова и не зависит от числа Х-хромосом, хотя синтез этого фермента контролируется геном, локализованным в Х-хромосоме (Grumbach, Morishima, 1962). Это значит, что все Х-хромосомы, кроме одной, в клетке инактивированы и гены, локализованные в них, не экспрессируются. Анализ активности ферментов, контролируемых генами, локализованными в Х-хромосоме, свидетельствует также и о мозаичном их проявлении в тканях млекопитающих (Beutler et al., 1962). О том же свидетельствует и цитогенетический анализ клеток мышей, гетерозиготных по транслокации между Х-хромосомой и аутосомой: в этом случае благодаря транслокации инактивированные материнские и отцовские Х-хромосомы легко отличить друг от друга.

Эти, а также многочисленные аналогичные данные позволили сделать два важных вывода: 1) компенсация дозы генов, локализованных в Х-хромосоме, в тканях млекопитающих осуществляется путем инактивации одной из Х-хромосом; 2) инактивация Х-хромосомы отцовского или материнского происхождения носит случайный характер, так что примерно половина клеток может содержать инактивированную отцовскую Х-хромосому, а половина — материнскую.

Гипотеза Лайон о случайной инактивации одной из Х-хромосом многократно проверялась при изучении наследования сцепленных с полом признаков у млекопитающих. Дальнейшие исследования показали, что в ряде случаев не наблюдается мозаичного эффекта в проявлении признаков, сцепленных с полом. В некоторых случаях на основании биохимических исследований, а также изучения эритроцитарных антигенов было строго установлено, что отдельные гены, локализованные в Х-хромосоме, проявляют себя так, как будто обе Х-хромосомы в клетке активны (Steele, 1970; Shapiro et al., 1979, и др.). Это привело к представлению о том, что отдельные участки Х-хромосом вообще не претерпевают инактивацию. Сравнительное цитоморфологическое изучение гетеропикноза Х-хромосом у ряда видов плацентарных млекопитающих подтвердило правильность этой точки зрения. В частности, было установлено, что в гетеропикнотическом состоянии может находиться у одних

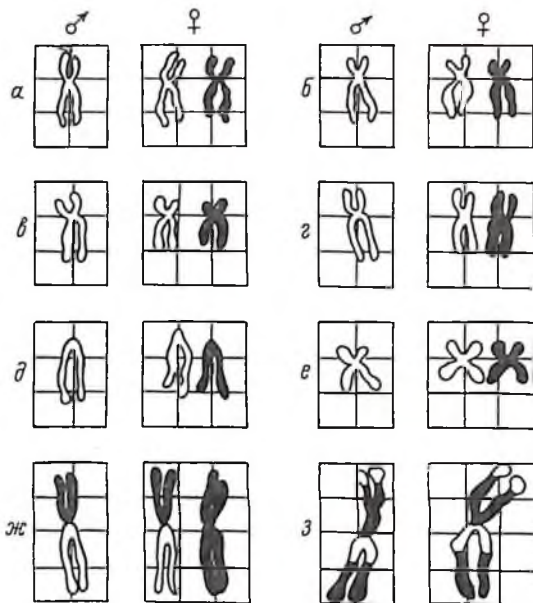


Рис. 3. Схематическое изображение X-хромосом у восьми видов плацентарных млекопитающих (по: Ohno et al., 1964).

X-хромосомы: слева — самцы, справа — самки. Черным обозначены гетерохроматические районы, белым — эухроматические. Хромосомы: а — собаки, б — мыши, в — крупного рогатого скота, г — человека, д — мыши, е — кошки, ж — золотистого хомячка, з — полевок.

видов вся X-хромосома (собака, мул, человек, мышь, кошка, крупный рогатый скот; рис. 3, а—е), а у других — часть ее (например, золотистый и китайский хомячок, полевки — *Microtus oregoni* и *M. agrestis*; рис. 3, ж, з; табл. VI, з); у полевок частично инактивируется и Y-хромосома (Ohno et al., 1963, 1964; Hill, Yunis, 1967; см. также обзор: Зыбина, Тихомирова, 1965). Таким образом,

тельце Барра, вероятно, представляет собой не целую X-хромосому, а лишь часть.

Следует отметить, что у ряда животных, у которых женский пол является гетерогаметным, половой хроматин образуется Y-хромосомой (Traut, Mosbacher, 1968; Suomalainen, 1969; Traut, Rathjens, 1973). При этом не исключена возможность, что в некоторых случаях половой хроматин составлен как Y-, так и X-хромосомами, например в трофоцитах яблонной плодовой гнили (Грузова, 1974). Не исключено, что инактивация X-хромосомы или ее участков может носить обратимый характер. При определенных условиях, в частности, при гибридизации клеток с клетками другого вида или при изменении компонентов питательной среды, может происходить дерепрессия отдельных локусов лайонизированной X-хромосомы (Kahan, De Mars, 1975; Kahan, 1978). Есть данные о возобновлении активности репрессированной X-хромосомы в профазе митоза (Back, 1969). Вопрос о периодах инактивации и дерепрессии X-хромосом в онтогенезе будет нами рассмотрен несколько позднее.

Многие из приведенных фактов свидетельствуют о том, что половой хроматин обладает многими свойствами, присущими гетерохроматину: он генетически неактивен, сохраняет конденсированное состояние во время интерфазы. Следует отметить, что ему присуще еще одно из фундаментальных свойств гетерохроматина — более поздняя, по сравнению с эухроматическими районами, репликация во время S-периода (Comings, 1967; Back, 1976, и др.). Однако возможность перехода из гетеропикнотического состояния в изопикнотическое, из инактивированного состояния в генетически активное позволяет считать половой хроматин инактивированным эухроматином, а не гетерохроматином (Прокофьева-Бельговская, 1977).

Биологическое значение полового хроматина

Можно предполагать, что механизм инактивации X-хромосом с образованием телец полового хроматина в интерфазных ядрах имеет большое эволюционное значение. Сравнительное исследование кариотипов у многих видов плацентарных млекопитающих (человек, кошка, собака, золотистый хомячок, полевка и др. — Ohno et al., 1964) показало, что, несмотря на большое варьирование в числе хромосом (от 17—18 до 78), общее количество хромосомного материала, оцениваемое по площади хромосом, у них более или менее одинаково ($145.14—167.73 \text{ мкм}^2$). Более того, оказалось постоянным отношение площади функционирующей X-хромосомы к площади гаплоидного набора аутосом ($5.07—6.45 \%$) при варьировании абсолютного размера X-хромосом ($3.75—12.70 \text{ мкм}^2$). Это достигается за счет инактивации большей или меньшей

части X-хромосомы. Так, у большинства млекопитающих в интерфазных ядрах самок можно наблюдать одну гетеропикнотическую по всей длине X-хромосому. Но у золотистого хомячка (то же, очевидно, имеет место у китайского хомячка и шиншиллы) X-хромосома вдвое крупнее (8.33 мкм^2), чем у других млекопитающих ($4.11—4.65 \text{ мкм}^2$), и в гетеропикнотическом состоянии у самок находится не только одна X-хромосома, но и половина второй. У самцов этого вида половина их единственной X-хромосомы также является гетеропикнотической. Еще более интересно поведение X-хромосомы полевки *Microtus oregoni*, которая у этого вида втрое крупнее ($12—70 \text{ мкм}^2$), чем у других млекопитающих: в гетеропикнотическом состоянии в этом случае находится $2/3$ X-хромосомы (рис. 3, з; табл. VI, з), как у самки (XO), так и у самца (XY). Это хорошо согласуется с наличием хромоцентров в интерфазных ядрах соматических клеток самок и самцов (табл. VI, е, з). Эти данные показывают, что инактивация X-хромосом является механизмом поддержания определенного отношения X-хромосом и аутосом у организмов.

Однако этот механизм, очевидно, не единственный. У того же вида полевки, кроме уже описанной особенности поведения X-хромосом, наблюдается элиминация X-хромосомы в гаметогенезе самца.

Таким образом, в процессе эволюции выработались, очевидно, различные механизмы поддержания оптимального соотношения X-хромосом и аутосом: как путем инактивации (гетеропикноз), так и путем элиминации X-хромосом (Ohno et al., 1963).

Половой хроматин был идентифицирован у двудомного растения *Rumex acetosa* (щавель) у экземпляров гетерогаметного мужского пола типа XY_1Y_2 (Shimizu, 1961); наличие телец Барра в данном случае обусловлено гетеропикнотическим состоянием Y-хромосомы. Можно предположить, что и в этом случае действует тот же механизм инактивации, в данном случае одной из Y-хромосом, выравнивающий генный баланс в клетке.

Изучение циклических изменений половых хромосом, в том числе и полового хроматина, может сыграть большую роль в решении общей проблемы специфического функционирования аутосом и их отдельных участков, так как эти изменения сопровождаются изменением характера их функционирования. В частности, становится возможным объяснить встречаемость индивидуумов, анеуплоидных по половым хромосомам, и отсутствие анеуплоидии по крупным аутосомам у человека: по-видимому, аутосомы, в каком бы числе они ни были, не обладают способностью находиться в инактивированном состоянии. Правда, некоторые исследователи считают, что низкую активность щелочной фосфатазы в лейкоцитах при миелоидной лейкемии у человека можно объяснить частичной инактивацией 21-й аутосомы. Может быть, подобная инактивация аутосом имеет место и у гетерозиготных индивидуумов, больных серповидноклеточной анемией, так как в их крови, как правило, бывает меньше гемоглобина S по сравнению с гемоглобином А (Beutler, 1963).

У дрозофилы приближение любого эухроматического участка к гетерохроматическому в результате хромосомных перестроек (инверсия, транслокация) приводит к наследственному изменению циклических свойств этого эухроматического участка: как правило, этот участок переходит в гетеропикнотическое состояние. Изменение цикла эухроматического района в этом случае ведет к изменению обменных процессов, связанных с данным участком. Проявляется это, например, в том, что развитие признака, контролируемого данным эухроматическим участком, может изменяться от доминантного к рецессивному (Прокофьева-Бельговская, 1960). Дифференциальный гетеропикноз гетерохроматических и расположенных вблизи них эухроматических районов хромосом у дрозофилы, подобно половому хроматину в интерфазном ядре млекопитающих, представляет собой один из механизмов дифференциации функционирования хромосом или их участков в организме.

Замечено, что инверсии и транслокации хромосом в гетерозиготном состоянии у дрозофилы часто приводят к мозаичности проявления признака: одни клетки обладают рецессивными признаками, другие, расположенные рядом, — доминантными. Так, гены дикого типа (rst^+ , fa^+ , dm^+ , ec^+ , bi^+), при перенесении их в правый конец X-хромосомы, в соседстве с гетерохромати-

ном (инверсия № 264-54) обуславливают мозаичный фенотип гетерозиготных самок. В то же время гены *reb*⁺ и *rb*⁺, расположенные дальше других от гетерохроматина, не изменяют своего проявления. Такое же явление наблюдается при транслокации 4-й хромосомы на X-хромосому: гены *w*⁺ и *rst*⁺, оказавшиеся вблизи от гетерохроматина, имеют мозаичное проявление в гетерозиготном фенотипе. Аналогичная закономерность наблюдается более чем в 50 линиях дрозофилы с различными инверсиями и транслокациями подобного типа (Bridges, Brehme, 1944). Мозаичное выражение признаков у гетерозиготных форм наблюдали также и у растения энотеры (Vagner, Mitchell, 1958). Правда, известны некоторые исключения из этого правила, но и упомянутые факты, которые до сих пор не могли быть объяснены, уже заслуживают внимания.

Очевидно, и здесь имеет место нечто подобное тому, что впервые на мышах наблюдала Лайон: в клетках функционирует лишь одна X-хромосома, другая находится в неактивном состоянии. Причем в неактивном состоянии могут находиться как aberrантные, так и нормальные хромосомы, обуславливая мозаичный фенотип. Таким образом, можно считать, что механизм поддержания генного баланса путем полной или частичной инактивации X-хромосом в клетке является широко распространенным.

Поведение инактивированной X-хромосомы в клеточном цикле

На различия по частоте встречаемости телец Барра в интерфазных и профазных ядрах при митозе указал Оно (Ohno, 1962). Автор объяснил это следующим образом: гетеропикнотическая X-хромосома в ядрах женских особей не остается сильно конденсированной в течение всей интерфазы, а подвергается скоропроходящему изопикнозу, который протекает у нее скорее, чем у другой X-хромосомы и у аутосом. Это приводит к тому, что в интерфазе тельца Барра встречаются не во всех ядрах. При этом в профазе митоза практически каждое ядро содержит гетеропикнотическую X-хромосому (Ohno, Weller, 1961). Моришима с соавторами (Morishima et al., 1962), используя автордиографический метод для исследования хромосом лейкоцитов человека, показал, что отсутствие видимого полового хроматина в интерфазных ядрах совпадает по времени с репликацией той X-хромосомы, которая дает начало тельцу Барра. В ней чаще обнаруживается более ранняя конденсация в профазе, чем в остальных хромосомах.

Однако имеются данные и противоположного характера, свидетельствующие о том, что тельца полового хроматина сохраняют конденсированное состояние в течение всего времени репликации ДНК (Comings, 1967). Аналогичные результаты были получены для Y-хромосомы и для других гетерохроматических районов хромосом (Pera, Wolf, 1967; Zuk, 1969, и др.). Для объяснения этого явления была выдвинута гипотеза, согласно которой небольшие участки гетерохроматических районов все же могут на короткое время претерпевать деспирализацию для прохождения репликации, тогда как основная масса их остается в конденсированном состоянии. Таким образом, вопрос о способах репликации гетерохроматических районов хромосом остается открытым.

Следует обратить внимание на данные ряда работ, указывающие на то, что половой хроматин может претерпевать деспирализацию на протяжении короткого времени в течение G₁-фазы. Об этом свидетельствуют, в частности, исследования Теркельсена, Петерсена и Ламма (Therkelsen, Petersen, 1962; Therkelsen, Lamm, 1967), согласно которым частота встречаемости ядер, положительных по половому хроматину, выше в G₂-фазе, чем в G₁-фазе. Не исключена возможность, что та или иная степень деспирализации полового хроматина сохраняется и в S-фазе. Возможно, этим и объясняется меньшая частота встречаемости телец Барра в интерфазе по сравнению с профазой.

Инактивированные X-хромосомы, образующие половой хроматин, характеризуются более поздней репликацией в S-периоде по сравнению с аутосомами (Comings, 1967; Back, 1976). Необходимо также отметить, что, по данным неко-

торых исследователей, половой хроматин отличается по времени репликации от так называемого конститутивного гетерохроматина. Так, например, при автордиографическом изучении репликации хромосом в интерфазных ядрах клеток культуры фибробластов и эпителия полевки *Microtus agrestis* оказалось возможным выделить три типа хроматина: ранореплицирующийся эухроматин, позднеореплицирующийся половой хроматин и очень позднеореплицирующийся гетерохроматин (Pera, Wolf, 1967). Из этих данных можно заключить, что половой хроматин претерпевает репликацию позднее эухроматина, но раньше гетерохроматических участков хромосом, не имеющих отношения к половому хроматину.

Следует также отметить высокую асинхронность репликации аллоциклических половых хромосом, о чем свидетельствуют, например, данные А. Ф. Захарова и Н. А. Еголиной (Захаров, Еголина, 1968).

Происходит ли полная репликация полового хроматина в течение S-периода? На этот вопрос отвечают результаты работы Клингера с соавторами (Klinger et al., 1967). В результате цитотометрического определения содержания ДНК в ядрах фибробластов человека и в тельцах Барра тех же ядер было показано, что в ходе удвоения содержания ДНК в ядре за время S-периода происходит удвоение содержания ДНК и в тельце Барра, т. е. репликация его осуществляется полностью.

Таким образом, тельце полового хроматина, по-видимому, может оставаться конденсированным в течение всего периода интерфазы или большей ее части. Несмотря на это, происходит репликация всей ДНК инактивированной X-хромосомы; для прохождения такой репликации последняя, по всей вероятности, не претерпевает полной деконденсации.

Динамика и механизм инактивации X-хромосом в раннем онтогенезе

Изучение времени появления полового хроматина в раннем развитии зародышей вначале представляло интерес в связи с возможностью определения пола задолго до дифференцировки половых гонад, что имеет несомненное значение для медицинской практики, а также в цитогенетических исследованиях. Анализ клеток зародышевых оболочек позволяет определить пол эмбриона, не повреждая при этом его ткани.

Для определения времени первого появления телец полового хроматина в онтогенезе Парк (Park, 1957) изучил самые ранние зародыши человека (начиная со стадии двух бластомеров) и макака (со стадии свободной бластоцисты). Впервые Парк смог идентифицировать половой хроматин у этих объектов в 10—12-суточной бластоцисте в клетках трофобласта, в клетках же собственно зародыша — лишь на 16—19-е сут развития.

Остин и Аморозо (Austin, Amoroso, 1957; Austin, 1962) исследовали стадию ранних зародышей кошки, включавшую одноклеточную стадию, стадию двух бластомеров, морулу и бластоцисты от 6-х до 20-х сут развития. Половой хроматин не был найден на стадиях дробления, но становился отчетливо заметным в трофобласте поздней бластоцисты; в клетках собственно зародыша он был виден, начиная с постимплантационной стадии развития. Эти данные свидетельствуют о том, что половой хроматин выявляется в разных тканях зародыша в различное время.

Была сделана попытка обнаружить тельца полового хроматина на ранних стадиях развития кролика и крысы, т. е. у таких животных, у которых в интерфазных ядрах взрослых особей невозможно идентифицировать половой хроматин, так как он маскируется наличием других хромоцентров. На начальных стадиях дробления зиготы у кролика и крысы половой хроматин не различим, в то же время ядра очень слабо окрашиваются по Фельгену. При последующем дроблении постепенно усиливается Фельген-положительная окраска интерфазного ядра, увеличивается его структурированность. Тельца полового хроматина появляются в интерфазных ядрах женских особей кролика за 2 сут до начала имплантации бластоцисты, у крысы — в уже имплантировавшихся

зародышах на 6-е сут их развития, тогда как закладка гонад происходит у них лишь на 10-е сут. Таким образом, оказалось возможным определить пол ранних зародышей крысы и кролика по половому хроматину, начиная со стадии поздней бластулы (Зыбина, 1960, 1964; Melander, 1962). Здесь необходимо подчеркнуть одну общую особенность появления телец Барра: в клетках трофобласта они появляются раньше, чем в клетках собственно зародыша.

Половой хроматин изучался также у ранних зародышей домашней птицы путем биопсии агеа ораса. В то время как у кур закладка гонад происходит на 4-е сут инкубации, а по строению гонад пол становится различным между 5-ми и 9-ми сут, половой хроматин можно видеть уже на 2-суточной стадии развития и в неинкубированном свежеснесенном яйце (Ishizaki, Kosin, 1960).

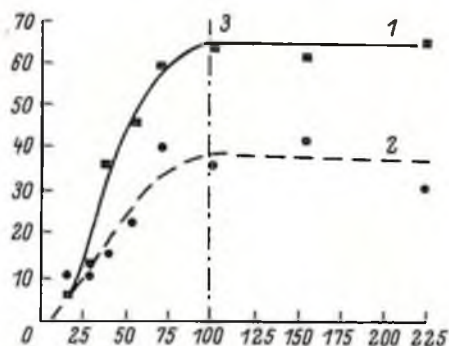
У человека гонады гистологически дифференцируются на 7-й неделе развития. Но изучение полового хроматина позволяет диагностировать пол раньше. Гленистер (Glenister, 1956) нашел половой хроматин в пресомитном зародыше длиной 1.7 мм и даже в клетках синцитиотрофобласта в имплантировавшихся бластоцистах, что совпадает с данными Парка. Следовательно, и у человека половой хроматин появляется значительно раньше, чем происходит закладка гонад.

Таковы результаты первых наблюдений по появлению телец Барра в онтогенезе. Интересно, что для всех изученных к тому времени видов млекопитающих наблюдалась одна и та же закономерность: половой хроматин начинает выявляться в ядрах клеток зародышей либо незадолго до имплантации, либо во время или же сразу после нее. Начиная со второй половины 60-х и в 70-е годы появляются сообщения о том, что половой хроматин можно выявить на более ранних стадиях развития зародыша. Так, например, у золотистого хомячка половой хроматин в клетках зародыша наблюдается уже на 8-клеточной стадии (Lindmark, Melander, 1970), у зародыша свиньи тельца Барра обнаружены на 20—40-клеточной стадии (Axelson, 1968). Несколько позднее было уточнено время первого появления полового хроматина у кролика: согласно данным Плотник с соавторами (Plotnick et al., 1971), у трех из 99 четырехсуточных эмбрионов частота встречаемости клеток, положительных по половому хроматину, составляла 10 %, т. е. в очень редких случаях половой хроматин начинает появляться в клетках зародышей на 2 сут раньше, чем это было показано в более ранних работах (Melander, 1962; Зыбина, 1964). Существуют также данные о динамике возрастания числа клеток с тельцами Барра на последовательных стадиях развития зародыша. Так, в бластоцистах кролика на 6-е сут встречались лишь единичные клетки с тельцем Барра, на 7-е сут их было уже 40 % в трофобласте, а на 8-е сут 60 % клеток трофобласта содержали половой хроматин (Зыбина, 1964). Другие авторы проследили, что по мере увеличения общего числа клеток ранних зародышей кролика пропорционально возрастает доля клеток с половым хроматином. Дойдя до 50 % содержание клеток с тельцами Барра растет более замедленно и, достигнув 60 %, уже более не возрастает (Issa et al., 1969); общее число клеток при этом составляет около 10^4 (рис. 4). Следует отметить, что известные факты о времени появления полового хроматина не противоречат друг другу. Напротив, они позволяют проследить некоторую закономерность: в период дробления начинается процесс конденсации одной из половых хромосом и образования телец полового хроматина, который протекает крайне замедленно, вследствие чего тельца Барра можно обнаружить лишь в очень редких случаях, а в период подготовки к имплантации зародыша частота встречаемости полового хроматина резко повышается, так что незадолго до имплантации или во время ее половой хроматин обнаруживается в ядрах значительного количества клеток.

В пользу предположения о постепенной инактивации X-хромосомы в раннем эмбриогенезе свидетельствует серия работ, появившихся в 70-е годы, которые были посвящены изучению закономерностей инактивации одной из X-хромосом, выявляемой не в виде телец Барра в интерфазных ядрах, а на метафазных пластинках. При окрашивании флуорохромом (акрихин-иприт) аллоциклическая X-хромосома флуоресцирует ярче, чем активная изоциклическая. Аллоциклическими называются хромосомы или участки хромосом, которые в S-периоде претерпевают репликацию значительно позже или, наоборот, раньше по сравне-

Рис. 4. Постепенное нарастание числа клеток с тельцами Барра в ходе начальных этапов развития бластоцисты кролика и стабилизация этого процесса, после того как число клеток превысило 10 000 (по: Issa et al., 1969).

1 — тельца Барра; 2 — гетеропикиоз Х-хромосомы в профазе; 3 — момент стабилизации. По оси абсцисс — квадратный корень из числа клеток в бластоцисте; по оси ординат — количество клеток.



нию с большей частью аутосом. Аллоциклическими чаще всего бывают гетерохроматические районы, они характеризуются более поздней репликацией (Прокофьева-Бельговская, 1977, и др.). Половой хроматин, как правило, также относится к поздне-reплицирующимся участкам хромосом (Comings, 1967). Таким образом, аллоциклическими являются генетически неактивные участки Х-хромосом (Back, 1976).

Изоциклические хромосомы или участки хромосом претерпевают репликацию одновременно с большей частью хромосом набора. Изоциклическими являются, как правило, эухроматические районы хромосом, которые не являются инактивированными. Такаги и Ошимура (Takagi, Oshimura, 1973) показали, что аллоциклическая Х-хромосома в клетках взрослых мышей и зародышей мыши гетерохроматизирована и ярко флуоресцирует при окраске акрихин-ипритом. Этим авторам удалось также обнаружить, что одна из двух Х-хромосом в клетках зародыша мыши ярко флуоресцирует уже в преимплантационный период в бластоцисте, состоящей из 40 клеток. Сходные результаты позднее были получены Е. Л. Паткиным (1981): аллоциклическая Х-хромосома обнаруживается задолго до имплантации — на стадии трех бластомеров.

Несколько иными методами были получены результаты, подтверждающие раннюю инактивацию Х-хромосомы. Согласно этим данным, экспрессия генов обеих Х-хромосом сменяется экспрессией генов одной Х-хромосомы в очень ранний период развития — на 3-и сут развития у мыши (Epstein et al., 1978a, 1978b; Kratzer, Gartler, 1978; Monk, Harper, 1979). Активность ферментов, контролируемых генами, локализованными в Х-хромосоме, уже на 3-и сут развития была снижена вдвое, что свидетельствует об инактивации одной из Х-хромосом. Создается впечатление, будто инактивация всех участков Х-хромосомы происходит не единовременно, вследствие чего проявление ее вначале можно наблюдать на уровне отдельных генов либо в метафазе, когда тенденция к конденсации выражена более отчетливо. Вероятно, лишь на завершающих этапах лайонизации инактивированная половая хромосома может четко выявляться в виде тельца Барра. Существуют гипотезы, согласно которым на Х-хромосомах имеются некоторые особые чувствительные участки, которые первыми подвергаются инактивации, затем этот процесс передается и на другие участки (Chandra, Brown, 1974).

Согласно другой гипотезе, последовательная инактивация участков одной из Х-хромосом происходит по мере того, как продукты транскрипции тех же участков активной Х-хромосомы становятся необходимыми для дифференцировки клеток зародыша (Bobrow, 1978). Несмотря на несколько спекулятивный характер, эти гипотезы объясняют возможность растянутого во времени процесса перехода Х-хромосомы в генетически неактивное состояние.

Еще одно удивительное явление состоит в том, что появление полового хроматина происходит в разных участках зародыша не одновременно. То же касается проявлений лайонизации, обнаруживаемых путем анализа активности сцепленных с полом ферментов, а также выявления аллоциклии хромосом. Хотя в трофэктодерме инактивация имеет место уже на 3-и сут развития (Gardner, Papaioannou, 1975; Monk, Harper, 1979), в клетках первичной энтодермы это происходит несколько позднее — на 4-е сут (Kratzer, Gartler, 1978). Клетки эпибласта, которые дают начало собственно зародышу, еще обнаруживают активность обеих Х-хромосом непосредственно после имплантации, т. е. на 6-е сут развития, что было установлено путем анализа активности

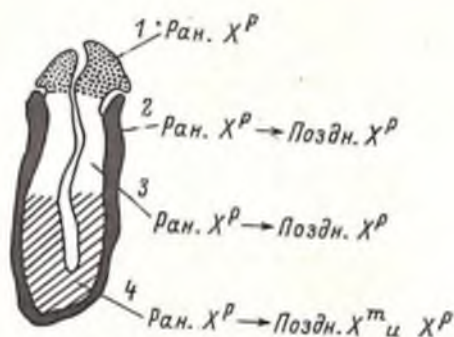
фермента гипоксантингуанинфосфорибозилтрансферазы (Monk, Harper, 1979) и фосфоглицераткиназы (Kozak, Quinn, 1975); по этим данным, полная инактивация наблюдается позднее — в течение первой половины 7-х сут развития. Кроме того, было показано, что появление аллоциклической X-хромосомы в различных клеточных слоях происходит в разное время (Takagi, Sasaki, 1975). Более поздние исследования дали возможность обнаружить еще одно любопытное явление: в разных участках зародыша инактивированная X-хромосома может иметь разное происхождение: в клетках трофобласта и внезародышевых оболочек инактивирована преимущественно отцовская X-хромосома, в клетках собственно зародыша характер инактивации X-хромосомы случаен, как это наблюдается и в тканях взрослых млекопитающих. Такое различие удалось показать при использовании так называемых транслокаций Кэттанакха. Это X-аутосомная транслокация, при которой X-хромосома мыши получает значительный по размерам участок одной из аутосом, что позволяет легко ее отличать от нормальной X-хромосомы. Если гомозиготных по этой транслокации самок скрестить с самцом, несущим нормальную X-хромосому, то на окрашенных флуорохромом метафазных пластинках клеток гибридных самок мы можем наблюдать яркую флуоресценцию либо материнской (длинной), либо отцовской (нормальной) X-хромосомы. Можно создать и обратную ситуацию: тогда материнская по происхождению хромосома будет нормальной длины, а отцовская — более длинной.

Таким образом, удастся маркировать X-хромосомы материнского и отцовского происхождения. При случайной инактивации X-хромосом соотношение клеток с инактивированными материнскими и отцовскими X-хромосомами окажется близким к 1:1. Именно такое соотношение наблюдается при изучении X-инактивации в разных тканях взрослых мышей (Nesbitt, 1971). Несколькая иная ситуация наблюдается при изучении клеток зародыша и внезародышевых оболочек. Детальное исследование, проведенное с использованием маркерных хромосом у мышей и крыс, показало, что в клетках желточного мешка наблюдается преимущественная инактивация отцовской X-хромосомы, тогда как в самом зародыше инактивируется либо отцовская, либо материнская X-хромосома, и этот процесс носит случайный характер (Takagi, Sasaki, 1975; Wake et al., 1976). Эти данные были подтверждены биохимическим изучением изотимов фосфоглицераткиназы, контролируемых сцепленными с полом генами у мышей, гетерозиготных по этим генам. Оказалось, что в клетках внезародышевых оболочек (энтодермы желточного мешка, трофобласта и хориона) проявляется главным образом активность изотима, контролируемого геном, локализованным в материнской X-хромосоме (West, Chapman, 1978), тогда как в большинстве тканей взрослого организма может проявляться активность как одного, так и другого изотима (West et al., 1977; West, Chapman, 1978; Frels et al., 1979; Frels, Chapman, 1980; Papaioannou et al., 1981).

Поскольку имплантирующаяся бластоциста является генетически чужеродной по отношению к тканям стенки матки, в которые она врастает, наблюдающаяся предпочтительная инактивация отцовской X-хромосомы в тканях внезародышевых оболочек, особенно в трофобласте, непосредственно граничащем с клетками эндометрия, вероятно, является биологически оправданной. Инактивация отцовской X-хромосомы, возможно, несколько снижает иммунологическую несовместимость материнских и зародышевых клеток не только в период имплантации, но и на протяжении всей беременности в ходе формирования и функционирования плаценты, в состав которой входят, как известно, децидуальные клетки (материнская часть плаценты) и различные популяции трофобласта (зародышевая часть плаценты). Нужно отметить, что инактивация отцовской X-хромосомы является, по всей вероятности, в эволюционном отношении более древней, так как она имеет место в тканях взрослых сумчатых (Vande Berg et al., 1973). Инактивация такого типа встречается и у некоторых других животных (Nur, 1967). Однако, вероятно, переход к случайной инактивации оказался в чем-то биологически более выгодным; возможно, он способствует более полному проявлению генетических потенций организма за счет экспрессии генов как материнской, так и отцовской X-хромосомы. В клетках трофобласта и зародышевых оболочек более древний тип инактивации закрепился как

Рис. 5. Способы инактивации X-хромосомы в различных частях раннего зародыша мыши (по: Takagi et al., 1982).

X-хромосомы: X^P — отцовская, X^m — материнская. В клетках эктоплацентарного конуса (1) ранняя репликация (Ран) и неслучайная инактивация X^P сохраняются продолжительное время. В проксимальной энтодерме (2) и экстраэмбриональной эктодерме (3) ранняя репликация X^P сменяется поздней репликацией (Поздн). Неслучайный характер инактивации X^P сохраняется. В эмбриональной эктодерме (4) наблюдается быстрый переход от ранней репликации и неслучайной инактивации X^P к поздней репликации случайно инактивированных X^m и X^P .



имеющий значение для создания иммунологического барьера между тканями матери и плода.

Цитогенетические исследования с использованием транслокаций Каттанакха с одновременным применением бромдезоксинуридина позволили определить как происхождение X-хромосомы, так и время ее репликации в S-периоде по отношению к другим хромосомам набора. Оказалось, что аллоциклические инактивированные X-хромосомы в клетках ранних зародышей могут претерпевать репликацию не только позднее, но и раньше большинства хромосом набора. При этом в тех участках зародыша, где преобладает инактивация X-хромосомы отцовского происхождения, последняя бывает, как правило, ранореплицирующей, а там, где наблюдается случайная инактивация X-хромосомы либо отцовского, либо материнского происхождения, она чаще бывает поздне-реплицирующей (Takagi et al., 1982). В клетках экстраэмбриональной эктодермы, проксимальной энтодермы и эктоплацентарного конуса, которые впоследствии принимают участие в образовании внезародышевых оболочек — желточного мешка и плаценты, аллоциклическая X-хромосома является преимущественно ранореплицирующей, а в клетках эмбриональной эктодермы — поздне-реплицирующей. На основании этих результатов Такаги с соавторами предположил, что механизм инактивации X-хромосомы в разных зачатках раннего зародыша принципиально различен. В самом деле, в клетках зародышевых оболочек тип инактивации X-хромосом отличается от такового в клетках собственно зародыша по трем признакам: времени инактивации в ходе раннего развития, происхождению и времени репликации в S-периоде. Интересно, что даже в клетках, которые дадут начало собственно зародышу, вначале (через 5.3 сут от начала развития зародыша) имеет место ранняя репликация (табл. I; рис. 5), при этом аллоциклическими являются только отцовские X-хромосомы; и лишь несколько позднее (через 5.8 сут развития) начинают появляться аллоциклические X-хромосомы материнского происхождения, количество которых к середине 7-х сут достигает 47 %, при этом материнские X-хромосомы всегда бывают только поздне-реплицирующими. Здесь мы также наблюдаем полное совпадение происхождения аллоциклической X-хромосомы и времени ее репликации, что является подтверждением высказанного предположения о существовании принципиальных различий между двумя способами инактивации X-хромосом. В клетках проксимальной энтодермы и экстраэмбриональной эктодермы наблюдается переход от ранней репликации к поздней при сохранении инактивации X-хромосомы отцовского происхождения, а в клетках эктоплацентарного конуса полностью сохраняется тот тип инактивации X-хромосомы, который был вначале.

Результаты данной работы (Takagi et al., 1982) являются весомым подтверждением той точки зрения, что случайный тип инактивации X-хромосомы является вторичным по отношению к инактивации отцовской хромосомы. Клетки трофобласта, происшедшие из эктоплацентарного конуса, оказываются при этом наиболее консервативными (табл. I; рис. 5), что лишь раз свидетельствует о необратимом характере их дифференцировки (на этом более подробно остановимся в других разделах). Здесь мы видим, что все те зачатки, которые примут участие в образовании тканей, граничащих с материнским организмом (трофобласт плаценты, желточный мешок и др.),

Таблица 1

Образцы репликации аллоциклической X-хромосомы в различных тканях, изолированных из зародышей мыши женского пола в период с 5-х по 7-е сут развития (по: Takagi et al., 1982)

Стадия развития зародыша, сут	Общее число изученных клеток	Клетки, %, содержащие				две изоциклические X-хромосомы
		X ^p		X ^m		
		PX	ПХ	PX	ПХ	
Эмбриональная эктодерма						
5.3	293(16)	15.0	5.5	0	0	79.5
5.8	59(4)	18.6	8.5	0	6.8	66.1
5.9	105(4)	21.9	16.2	0	19.0	42.9
6.0	269(5)	16.0	26.0	0	26.0	32.0
6.3	633(11)	5.4	48.2	0	42.3	4.1
6.4	108(3)	4.6	43.5	0	51.9	0
6.5	509(11)	0	50.1	0	47.0	2.9
Проксимальная энтодерма						
5.3	126(14)	79.4	10.3	0	0	10.3
5.8	54(4)	92.6	3.7	0	0	3.7
5.9	88(4)	80.7	13.6	0	0	5.7
6.0	248(5)	81.0	12.9	0.4	0	5.6
6.3	381(11)	72.4	20.2	0.3	0.3	6.8
6.4	96(3)	15.7	80.2	0	0	4.2
6.5	69(5)	4.3	79.8	0	4.3	11.6
Экстра-эмбриональная эктодерма						
5.3	153(16)	79.1	2.0	0	0.6	18.3
5.8	62(4)	85.5	1.6	0	0	12.9
5.9	134(4)	61.9	16.4	0	1.5	20.1
6.0	265(5)	72.1	20.0	0	0	7.9
6.3	382(11)	46.1	44.5	0	1.8	7.6
6.4	133(3)	14.3	82.7	0	1.5	1.5
6.5	171(7)	4.7	74.9	0	16.9	3.5
Эктоплацентарный конус						
5.8	12(3)	91.7	0	0	0	8.3
5.9	24(2)	91.7	8.3	0	0	0
6.0	51(4)	90.2	7.8	0	0	2.0
6.4	65(3)	83.2	12.3	0	0	4.6

Примечание. В скобках — число зародышей. PX — раннереплицирующаяся X-хромосома, ПХ — поздне-reплицирующаяся X-хромосома. X^p — X-хромосомы отцовского происхождения. X^m — X-хромосомы материнского происхождения.

характеризуются инактивацией преимущественно отцовской X-хромосомы. При этом для каждого из зачатков механизмы инактивации все же несколько различаются, что косвенно свидетельствует о различном типе дифференцировки этих клеток уже в очень ранний период развития зародыша. В связи с этим изучение инактивации X-хромосомы и различных ее проявлений может служить одним из способов изучения клеточной дифференцировки у ранних зародышей.

Поведение полового хроматина в оогенезе и сперматогенезе

Примером возможности перехода инактивированной X-хромосомы в генетически активное состояние является ее поведение в оогенезе и на ранних стадиях дробления яйца.

При изучении оогенеза у человека и у мыши было обнаружено, что интерфазные ядра зародышевого эпителия, так же как и фолликулярных клеток, содержат половой хроматин (Ohno et al., 1961, 1962). Однако с начала профазы мейоза X-хромосома становится изопикнотической с аутосомами. Изопикноз сохраняется и после оплодотворения, в дробящихся яйцах, до стадии бластулы или гастрюлы (Wogum, 1961; Ohno, 1962).

Более детальное исследование поведения гетеропикнотической X-хромосомы, начиная от обособления первичных половых клеток, проведенное А. Г. Семе-

новой-Тянь-Шанской и Е. Л. Паткиным (1977) на ранних зародышах человека, показало, что в первичных гоноцитах тельце Барра не обнаруживается до тех пор, пока гоноциты не достигнут стенок гонады. В пролиферирующих оогониях тельце Барра хорошо выявляется, а в ооцитах, т. е. в клетках, вступивших в мейоз, гетеропикноз одной из X-хромосом снова исчезает (табл. VI, а). Результаты биохимического изучения некоторых генных продуктов X-хромосомы в ооцитах мыши также свидетельствуют об активности обеих X-хромосом в период профазы мейоза (Gartler et al., 1975).

Своеобразное поведение обнаруживают X- и Y-хромосомы в период сперматогенеза у человека и у ряда изученных животных. Показано, что в профазе, метафазе и анафазе митоза в сперматогониях крысы и хомячка крупная X-хромосома изопикнотична, в то время как маленькая Y-хромосома обнаруживает положительный гетеропикноз. И только с самого начала мейоза X-хромосома становится гетеропикнотической. Y-хромосома на протяжении всего мейоза остается гетеропикнотической, так что конъюгация X- и Y-хромосом ограничена лишь терминальными участками, что и обуславливает отсутствие кроссинговера между ними. Гетеропикноз X-хромосомы сохраняется и в интеркинезе II и остается до конца мейоза (Ohno et al., 1958, 1960, 1962; Ohno, Weller, 1961). Изучение нормального сперматогенеза человека показало, что тельце полового хроматина обнаруживается не только в первичных и вторичных сперматоцитах, но и в некоторых сперматидах (Jirasek, 1957, цит. по: Austin, 1962). Таким образом, единственная X-хромосома в клетках мужских особей во время мейоза из изопикнотической превращается в гетеропикнотическую.

Биохимические данные также свидетельствуют в пользу инактивации X-хромосомы в ходе сперматогенеза: при созревании тестикул у мыши на 18—21-е сут развития происходит снижение вдвое активности сцепленного с полом фермента глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (в период вступления первой волны сперматоцитов в профазу мейоза), в то время как после этого уровень активности фермента практически не изменяется (Erickson, 1976).

Изучение времени репликации половых хромосом в сперматогенезе золотистого хомячка также выявило некоторые отличия в поведении X- и Y-хромосом в этот период: на одной из стадий сперматогенеза обе половые хромосомы в одной из популяций сперматогониев становились ранореплицирующимися, в то время как в соматических клетках самцов золотистого хомячка Y-хромосома и одно плечо X-хромосомы являются позднеореплицирующимися (Mukherjee, Ghosal, 1969).

Исследование половых хромосом в сперматогенезе у пауков (типа X_1X_2O , в отличие от ранее рассмотренных случаев типа XY) было проведено И. И. Соколовым (1962). Обнаруженный гетеропикноз X_1 и X_2 на прелептотенной стадии сохраняется в течение всего сперматогенеза. В гаплондных ядрах сперматид половые хромосомы долго сохраняют свою гетеропикнотичность и деспирализуются значительно позднее аутосом.

Приведенные данные дают основание полагать, что в период формирования гамет половые хромосомы ведут себя иначе, чем на других стадиях индивидуального развития: возможно, в это время происходит активация или инактивация этих хромосом, связанная с выработкой специфических продуктов, необходимых при дифференцировке ооцитов и спермиев.

Имеющиеся в настоящее время в литературе данные свидетельствуют о том, что наблюдавшийся в оогенезе изопикноз обеих X-хромосом с аутосомами сохраняется и после оплодотворения в дробящихся яйцах. Инактивация одной из X-хромосом в онтогенезе женских особей млекопитающих происходит не сразу, а лишь приблизительно к началу гастрюляции.

Значение исследований полового хроматина

Несмотря на все имеющиеся противоречия, гипотеза о том, что тельце полового хроматина в интерфазном ядре есть находящаяся в конденсированном состоянии инактивированная X-хромосома, является сейчас той рабочей гипоте-

зой, которая стимулирует большое количество исследований в различных странах. И это не случайно, ибо она не только объясняет многие явления (например, возможность существования людей, гиперплоидных по половым хромосомам), не только раскрывает специфику и особенности половых хромосом; она позволяет также подойти к решению более общих биологических проблем — например, к решению вопроса о механизме функционирования и репродукции хромосом.

Как уже упоминалось, в онтогенезе большинства изученных организмов половой хроматин появляется начиная со стадии бластулы. В это же время изменяется и состояние хромосом; покоящееся ядро содержит уже Фельгенположительные глыбки и нити хроматина, свидетельствующие о неполной деконденсации отдельных участков хромосом в интерфазе. Происходят изменения и на других фазах митоза, которые в общем можно характеризовать как прогрессивную гетерохроматизацию, что связано с дифференциацией клеток в организме (Прокофьева-Бельговская, 1960). Момент инактивации X-хромосом совпадает с тем периодом, когда в онтогенезе начинает проявляться транскрипционная активность самого зародыша. Следовательно, изучение особенностей и механизма появления полового хроматина в онтогенезе имеет непосредственное отношение к вопросам дифференциации организмов вообще.

Изучение циклических изменений в функционировании половых хромосом в онтогенезе, в том числе полового хроматина как одной из стадий в этом цикле, поможет, очевидно, в познании механизмов определения пола и в решении таких вопросов, как наследственно обусловленная потенциальная бисексуальность организмов при моносексуальном выражении признаков, появление признаков противоположного пола при старении и т. д.

Изучение полового хроматина оказалось чрезвычайно полезным в диагностике и познании так называемых хромосомных заболеваний человека (Прокофьева-Бельговская, 1963; Эфроимсон, 1964), а также при анализе пола опухолей (Ohno, Hauschka, 1960; Moore, 1962). Последнее имеет значение для анализа проблемы канцерогенеза.

Возможность определения пола у эмбрионов на ранних этапах развития задолго до дифференциации гонад, в случае искусственных аборт или естественных выкидышей, позволила установить целый ряд новых явлений и фактов. Так, например, долго оставалось загадкой такое явление, как почти полное отсутствие зародышей апенсерфалиа мужского пола у человека. Разгадка этой тайны природы пришла вместе с введением методики раннего диагностирования пола по наличию полового хроматина. Оказалось, что эмбрионы мужского пола с таким летальным признаком гибнут значительно раньше в онтогенезе, чем эмбрионы женского пола, а поэтому и не могли быть определены ранее (Polani, 1959, цит. по: Hamerton, 1961). Количество подобных примеров, имеющих большое значение для медицины, увеличивается по мере все более широкого распространения методики определения полового хроматина.

Существенной особенностью полового хроматина является то, что он может служить маркером интерфазного ядра, т. е. его поведение может в некоторой степени отражать процессы, происходящие с хромосомами интерфазного ядра, которые при цитоморфологическом изучении остаются невидимыми. В частности, это имеет значение при изучении механизмов умножения генома при полиплоидии: по числу гетеролинтотических половых хромосом и телец Барра можно судить о степени плоидности ядра, а также о механизмах репродукции отдельных хромосом.

ОБЩИЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О СООТНОШЕНИИ РАЗЛИЧНЫХ
МЕХАНИЗМОВ ПОЛИПЛОИДИЗАЦИИ КЛЕТОК

Полиплоидия, эндомиоз, эндорепродукция, политения

Соматическая полиплоидия широко распространена в тканях животных и растений, по всей вероятности, ее можно считать общебиологическим явлением. Сведения о распространенности этого явления, об уровнях и механизмах клеточной полиплоидии, а также о ее биологическом значении обобщены в последние годы в ряде обзорных статей и монографий, важнейшими из которых можно считать монографии В. Я. Бродского, И. В. Урываевой (1981) и Нагля (Nagl, 1978). Чрезвычайно важной для понимания эволюционных механизмов появления полиплоидии является обобщающая монография И. Б. Райкова (1978, 1982), где рассматриваются случаи полиплоидии у простейших. В настоящей главе, давая общее представление о соматической полиплоидии, мы уделим особое внимание тем случаям полиплоидизации, которые имеют место в различных популяциях клеток трофобласта. Механизмы полиплоидизации соматических клеток во многих случаях расшифрованы еще не до конца; в частности, это относится и к клеткам трофобласта, хотя в последнем случае по ряду сложных вопросов в настоящее время сложились наиболее ясные представления.

Детальное сравнительное рассмотрение полиплоидии в тканях различных организмов, в чем-то сходных в функциональном отношении с трофобластом, поможет лучше понять пути и значение полиплоидизации (как в трофобласте, так и в аналогичных ему тканях и клеточных популяциях), выявить общие тенденции становления полиплоидии как одной из особенностей дифференцировки клеток.

В отношении соматической полиплоидии одним из наиболее изученных классов животных являются насекомые. В личиночном развитии насекомых (как и других изученных беспозвоночных) можно различить две основные стадии: в течение первой клетки делятся митозом и происходит формирование всех органов; вторая стадия характеризуется так называемым эутелическим ростом, при котором увеличение объема органа происходит за счет увеличения размеров клеток вследствие эндополиплоидизации их ядер. Число клеток при этом остается постоянным, поскольку их пролиферации не происходит (Анисимов, Сидоров, 1972; Анисимов, 1974; Nagl, 1978).

Клетки многих тканей у насекомых и других беспозвоночных характеризуются определенным уровнем эндополиплоидии. Так, например, ядра клеток стенки семенника у разных видов Hemiptera имеют степень полиплоидии $16n$ ³, а у Orthoptera — $8-12n$ (Кикнадзе, Истомина, 1972; Истомина, 1976; Nagl, 1978). Наиболее высокой степени полиплоидии достигают ядра трофоцитов дрозофилы ($512n$ — Painter, Reindorp, 1939; $4096c$ ³ — King, 1970), клеток мальпигиевых трубочек (в среднем $8-32c$, но иногда $16\ 584c$ — Rasch, 1970; Nagl, 1978), слюнных желез двукрылых (от $1024c$ до $32\ 000c$ — Beerhann, 1962; Кикнадзе, 1972), шелкоотделительной железы тутового шелкопряда Bombyx mori ($512\ 288c$ — Gage, 1974). Наивысшая степень полиплоидии найдена в гигантских нейронах моллюсков тритонии и аплизии (свыше $200\ 000c$ — Сахаров, 1965; Lasek, Dower, 1971).

Эндополиплоидия широко распространена среди покрытосеменных растений, где она затрагивает самые разные органы и ткани (стебли, корни, листья, генеративные органы). Данные по эндополиплоидии различных органов растений приводятся в сводках Д'Амато (D'Amato, 1952) и Нагля (Nagl, 1978).

³ Здесь и далее: c — содержание ДНК в гаплоидном наборе хромосом, n — число хромосом в гаплоидном наборе.

зой, которая стимулирует большое количество исследований в различных странах. И это не случайно, ибо она не только объясняет многие явления (например, возможность существования людей, гиперплоидных по половым хромосомам), не только раскрывает специфику и особенности половых хромосом; она позволяет также подойти к решению более общих биологических проблем — например, к решению вопроса о механизме функционирования и репродукции хромосом.

Как уже упоминалось, в онтогенезе большинства изученных организмов половой хроматин появляется начиная со стадии бластулы. В это же время изменяется и состояние хромосом; покоящееся ядро содержит уже Фельгенположительные глыбки и нити хроматина, свидетельствующие о неполной деконденсации отдельных участков хромосом в интерфазе. Происходят изменения и на других фазах митоза, которые в общем можно характеризовать как прогрессивную гетерохроматизацию, что связано с дифференциацией клеток в организме (Прокофьева-Бельговская, 1960). Момент инактивации X-хромосом совпадает с тем периодом, когда в онтогенезе начинает проявляться транскрипционная активность самого зародыша. Следовательно, изучение особенностей и механизма появления полового хроматина в онтогенезе имеет непосредственное отношение к вопросам дифференциации организмов вообще.

Изучение циклических изменений в функционировании половых хромосом в онтогенезе, в том числе полового хроматина как одной из стадий в этом цикле, поможет, очевидно, в познании механизмов определения пола и в решении таких вопросов, как наследственно обусловленная потенциальная бисексуальность организмов при моносексуальном выражении признаков, появление признаков противоположного пола при старении и т. д.

Изучение полового хроматина оказалось чрезвычайно полезным в диагностике и познании так называемых хромосомных заболеваний человека (Прокофьева-Бельговская, 1963; Эфронсон, 1964), а также при анализе пола опухолей (Ohno, Haischka, 1960; Moore, 1962). Последнее имеет значение для анализа проблемы канцерогенеза.

Возможность определения пола у эмбрионов на ранних этапах развития задолго до дифференциации гонад, в случае искусственных абортов или естественных выкидышей, позволила установить целый ряд новых явлений и фактов. Так, например, долго оставалось загадкой такое явление, как почти полное отсутствие зародышей апенсерhалиа мужского пола у человека. Разгадка этой тайны природы пришла вместе с введением методики раннего диагностирования пола по наличию полового хроматина. Оказалось, что эмбрионы мужского пола с таким летальным признаком гибнут значительно раньше в онтогенезе, чем эмбрионы женского пола, а поэтому и не могли быть определены ранее (Polani, 1959, цит. по: Hamerton, 1961). Количество подобных примеров, имеющих большое значение для медицины, увеличивается по мере все более широкого распространения методики определения полового хроматина.

Существенной особенностью полового хроматина является то, что он может служить маркером интерфазного ядра, т. е. его поведение может в некоторой степени отражать процессы, происходящие с хромосомами интерфазного ядра, которые при цитоморфологическом изучении остаются невидимыми. В частности, это имеет значение при изучении механизмов умножения генома при полиплоидии: по числу гетеропикнотических половых хромосом и телец Барра можно судить о степени плоидности ядра, а также о механизмах репродукции отдельных хромосом.

ОБЩИЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О СООТНОШЕНИИ РАЗЛИЧНЫХ
МЕХАНИЗМОВ ПОЛИПЛОИДИЗАЦИИ КЛЕТОК

Полиплоидия, эндомиотоз, эндорепродукция, полителия

Соматическая полиплоидия широко распространена в тканях животных и растений, по всей вероятности, ее можно считать общебиологическим явлением. Сведения о распространенности этого явления, об уровнях и механизмах клеточной полиплоидии, а также о ее биологическом значении обобщены в последние годы в ряде обзорных статей и монографий, важнейшими из которых можно считать монографии В. Я. Бродского, И. В. Урываевой (1981) и Нагля (Nagl, 1978). Чрезвычайно важной для понимания эволюционных механизмов появления полиплоидии является обобщающая монография И. Б. Райкова (1978, 1982), где рассматриваются случаи полиплоидии у простейших. В настоящей главе, давая общее представление о соматической полиплоидии, мы уделим особое внимание тем случаям полиплоидизации, которые имеют место в различных популяциях клеток трофобласта. Механизмы полиплоидизации соматических клеток во многих случаях расшифрованы еще не до конца; в частности, это относится и к клеткам трофобласта, хотя в последнем случае по ряду сложных вопросов в настоящее время сложились наиболее ясные представления.

Детальное сравнительное рассмотрение полиплоидии в тканях различных организмов, в чем-то сходных в функциональном отношении с трофобластом, поможет лучше понять пути и значение полиплоидизации (как в трофобласте, так и в аналогичных ему тканях и клеточных популяциях), выявить общие тенденции становления полиплоидии как одной из особенностей дифференцировки клеток.

В отношении соматической полиплоидии одним из наиболее изученных классов животных являются насекомые. В личиночном развитии насекомых (как и других изученных беспозвоночных) можно различить две основные стадии: в течение первой клетки делятся митозом и происходит формирование всех органов; вторая стадия характеризуется так называемым эутелическим ростом, при котором увеличение объема органа происходит за счет увеличения размеров клеток вследствие эндополиплоидизации их ядер. Число клеток при этом остается постоянным, поскольку их пролиферации не происходит (Анисимов, Сидоров, 1972; Анисимов, 1974; Nagl, 1978).

Клетки многих тканей у насекомых и других беспозвоночных характеризуются определенным уровнем эндополиплоидии. Так, например, ядра клеток стенки семенника у разных видов Hemiptera имеют степень полиплоидии $16n$ ³, а у Orthoptera — $8-12n$ (Кикнадзе, Истомина, 1972; Истомина, 1976; Nagl, 1978). Наиболее высокой степени полиплоидии достигают ядра трофоцитов дрозофилы ($512n$ — Painter, Reindorp, 1939; $4096c$ ³ — King, 1970), клеток мальпигиевых трубочек (в среднем $8-32c$, но иногда $16\ 584c$ — Rasch, 1970; Nagl, 1978), слюнных желез двукрылых (от $1024c$ до $32\ 000c$ — Beermann, 1962; Кикнадзе, 1972), шелкоотделительной железы тутового шелкопряда Bombyx mori ($512\ 288c$ — Gage, 1974). Наивысшая степень полиплоидии найдена в гигантских нейронах моллюсков тритонии и аплизии (свыше $200\ 000c$ — Сахаров, 1965; Lasek, Dower, 1971).

Эндополиплоидия широко распространена среди покрытосеменных растений, где она затрагивает самые разные органы и ткани (стебли, корни, листья, генеративные органы). Данные по эндополиплоидии различных органов растений приводятся в сводках Д'Амато (D'Amato, 1952) и Нагля (Nagl, 1978).

³ Здесь и далее: c — содержание ДНК в гаплоидном наборе хромосом, n — число хромосом в гаплоидном наборе.

При сопоставлении широкого круга данных, по мнению Нагля (Nagl, 1978), вначале может возникнуть впечатление, что эндополиплоидия беспорядочно распространена в растительном и животном царстве и встречается во всех типах клеток и тканей. Однако систематическое рассмотрение имеющихся данных свидетельствует о существовании определенной тканеспецифичности в отношении уровней и механизмов полиплоидии.

Резко выделяются по степени эндополиплоидии элементы зародышевого мешка. Если степень плоидности ядер эпидермиса стебля, корня, мезофилла листьев, цветочных волосков составляет 4—32*n*, то значительно больших уровней плоидности достигают ядра антипод (от 128*n* до 1024*n*). Наиболее высокополиплоидными становятся ядра различных типов гаусториев, которые выполняют функцию разрушения и всасывания окружающих клеток нуцеллуса и интегумента при развитии зародыша (2048—8192*c* — Brady, 1973a, 1973b; Brady, Clutter, 1974; Nagl, 1978; и даже 24 576*n* — Erbrich, 1965). Сравнительное изучение эндополиплоидии у растений показало, что число циклов репликации, которые проходят клетки при обычных условиях роста растений, является определенным как для каждой ткани, так и для каждого вида растений (Tschermak-Woess, 1956; Захарьева, 1962; Nagl, 1978).

Таким образом, многочисленные данные свидетельствуют о том, что у большинства растений в ходе дифференцировки различных тканей имеет место спонтанно возникающая полиплоидизация клеток. Однако обычный, характерный для данной ткани ход полиплоидизации при нормальном развитии может быть изменен в результате заражения тканей паразитическими насекомыми и червями, а также различными грибами и бактериями (Nagl, 1978). Такие случаи, по мнению Нагля, представляют собой естественный эксперимент, позволяющий выявить потенциальные возможности клеток в отношении различных путей дифференцировки и достижения предельно высоких уровней полиплоидии. Довольно обширный материал свидетельствует о том, что клетки галлов, возникающих на листьях и корнях, часто содержат высокополиплоидные ядра. Хессе (Hesse, 1968) провел исследование цитологии тканей галлов, вызванных различными насекомыми и клещами; он установил, что степень полиплоидии клеток галлов всегда в несколько раз превышает уровень плоидности тканей, из которых они развиваются. Так, в галлах, возникающих на листьях дуба *Quercus robur* под влиянием личинок осы *Andricus marginalis*, большинство ядер имеет степень плоидности 128—512*n*, а некоторые — до 1024*n*, тогда как исходные клетки содержат преимущественно диплоидные ядра. Сходный уровень полиплоидии имеют ядра питающих клеток галлов, вызванных личинками осы *A. quercus*. Ядра клеток листового волоска фиалки *Viola odorata* при заражении личинкой галлицы *Dasyneura affinis* достигают вблизи личинки более высокого уровня эндополиплоидии — 256*n*, тогда как в норме ядра этих клеток не превышают 16*n*.

Заражение корней растений личинками нематод также сопровождается увеличением степени полиплоидии клеток хозяина. При этом довольно часто возникают многоядерные клетки (Bird, 1973). Иногда ядра таких многоядерных клеток являются эндополиплоидными. Так, например, гигантские полиплоидные ядра в корнях помидора *Lycopersicon esculentum*, зараженных нематодой *Meloidogyne incognita*, содержат в 11 раз больше ДНК, чем в неинфицированных корнях (Rubinstein, Owen, 1964).

Грибковое заражение растений также стимулирует повышение уровня полиплоидии. В корнях архидеи *Dactylorhiza purpurella*, зараженных грибом *Rhizoctonia*, клетки различных тканей претерпевают одну или две дополнительные репликации в ответ на инфекцию. Изменение уровня плоидности и хромосомные аномалии встречаются в ядрах некоторых растений под влиянием бактерий (Nagl, 1978).

В тканях позвоночных животных, в частности млекопитающих, также обнаружены полиплоидные клетки. Они встречаются в печени, поджелудочной и околоушной железах, в некоторых отделах нервной системы, в сердечной мышце, мегакариоцитах, в очагах воспаления (Vendrely, Vendrely, 1956; Хрушов и др., 1963; Бродский, 1966; Жинкин, 1966б; Миракян, Румянцев, 1968; Бродский, Урываева, 1970, 1974, 1977, 1981; Румянцев, 1978, 1982, и др.). Проблема

Таблица 2

Максимальные уровни плоидности клеток некоторых тканей у млекопитающих (по: Nagl, 1978, с дополнениями)

Вид	Ткань	Максимальная степень плоидности, с	Литературный источник
Серая полевка, <i>Microtus arvalis</i>	Гигантские клетки трофобласта	2048	Зыбина и др., 1975а
Мышь	Децидуальные клетки	32	Ansell et al., 1974
	Гигантские клетки трофобласта	512—1024	Barlow, Sherman, 1972
Крыса	Печень	16	Weste, Penington, 1972
	Гигантские клетки трофобласта	1024	Зыбина, 1963а
	Та же	4096	Nagl, 1972b
	Клетки трофобласта соединительной зоны плаценты	32—64	Зыбина, Грищенко, 1970; Зыбина и др., 1984б, 1984в
Кролик	Гигантские клетки трофобласта	256	Зыбина и др., 1973, 1975б
Человек	Мегакариоциты	64	Garcia, 1964
	Кардиомиоциты	16—64	Pfitzer, 1971
	Та же	32	Мартынова и др., 1983
	» »	96	Pfitzer, Capuso, 1970
	Мегакариоциты спинного мозга	128	Weste, Penington, 1972

соматической полиплоидии в тканях позвоночных животных особенно подробно исследована в Советском Союзе В. Я. Бродским и его сотрудниками, она детально освещена в многочисленных работах, монографиях и ряде обзорных публикаций (см., напр.: Бродский, Урываева, 1981); в связи с этим нет необходимости подробно останавливаться на всех вопросах, связанных с соматической полиплоидией у позвоночных, мы кратко остановимся лишь на некоторых из них.

Полиплоидные клетки обнаружены у всех исследованных позвоночных животных, и в некоторых тканях они составляют значительную или даже большую часть клеточной популяции. Полиплоидия развивается обычно в тех тканях позвоночных, где с возрастом тормозится или вообще прекращается митотическая активность клеток, поэтому полиплоидизация клеток связана обычно с их дифференцировкой в онтогенезе (Бродский, 1966; Бродский, Урываева, 1974, 1977, 1981), хотя эта связь не всегда одинаково четко прослеживается.

Степень полиплоидии клеток, встречающихся в тканях взрослых позвоночных животных, обычно невелика. Наиболее распространенную группу составляют тетраплоидные клетки, октаплоидных обычно бывает не более 10 %, а клетки со степенью плоидности 16с представляют собой редкое явление. Еще более высокая степень плоидности — 32—128с — была обнаружена в ядрах клеток внеорбитальной железы крысы, в децидуальных клетках эндометрия крысы и в ядрах мегакариоцитов (Бродский, 1966; Зыбина, Грищенко, 1972; Ansell et al., 1974; Nagl, 1978; Бродский, Урываева, 1981). Уникальными в отношении высоких уровней эндополиплоидии (табл. 2) являются клетки провизорного органа — плаценты грызунов, где максимальная степень плоидности достигает до 1024—4096с (Зыбина, 1963а, 1970; Barlow, Sherman, 1972; Nagl, 1972b). В этом отношении напрашивается аналогия между внеэмбриональными тканями позвоночных животных и так называемыми постоянными тканями растений, где степень полиплоидии не превышает 32—64с, а также между гигантскими клетками трофобласта млекопитающих и клетками гаустомерия покрытосеменных, которые достигают исключительно высокой степени полиплоидии, 1024—4096с (Зыбина, 1970; Nagl, 1973d).

Если вопрос об уровнях плоидности при изучении соматической полиплоидии тканей оказался наиболее простым для разрешения и во многих случаях не вызывает сомнений, то вопрос о путях многократного умножения генома и закономерностях поведения хромосом при этом и сейчас еще представляет значительную сложность. Решение последнего вопроса, как это будет показано ниже, невозможно без привлечения и комбинирования целого комплекса

современных методов. Для получения правильного представления все же необходимо кратко остановиться на истории изучения полиплоидии, методах ее изучения, а также на особенностях терминологии, которая также проходила определенные этапы своего развития с развитием знаний о механизмах полиплоидизации.

Проблема полиплоидии вначале привлекла к себе большое внимание в связи с решением научно-практических задач. Оказалось, что существуют формы растений с числом хромосом, увеличенным в два раза и более. Так, среди пшениц встречаются диплоидные (однозернянки), тетра- и гексаплоидные формы. Количество примеров можно было бы намного увеличить, так как полиплоидные ряды встречаются среди многих культурных и диких растений (Лобашев, 1967); полиплоидными у них являются все типы клеток, включая гаметы. Такой тип полиплоидии называют генеративным, в отличие от соматической полиплоидии, где полиплоидными могут быть лишь клетки определенных тканей. Основным методом выявления полиплоидии сначала был подсчет хромосом в митотически делящихся клетках. Впоследствии этого оказалось недостаточно, поскольку митозы во многих дифференцированных клетках могут представлять собой редкое явление или вовсе отсутствовать. Поэтому изучение именно соматической полиплоидии было затруднено и требовало специальных подходов, позволяющих обнаруживать полиплоидию в интерфазных ядрах. Одним из первых был метод измерения объемов ядер и их сравнения с объемами заведомо диплоидных ядер. В. Якоби (1925) впервые отметил, что изменение ядерных объемов гепатоцитов происходит кратно двум и пропорционально удвоению числа хромосом. Это дало возможность при выявлении ритмического удвоения ядерных объемов делать вывод о наличии полиплоидии в данной клеточной популяции.

Однако этим критерием успешно можно было пользоваться лишь тогда, когда удвоение объемов ядер можно было контролировать подсчетом числа хромосом в метафазных пластинках, так как увеличение объема ядра не всегда сопровождается увеличением числа хромосом. Поэтому эта методика может быть применена в случае измерения ядер в пределах одной и той же ткани. Методом измерения объемов ядер пользовались для изучения полиплоидии довольно долго, особенно в тех случаях, когда было необходимо выяснить динамику образования полиплоидных клеток в тот или иной период индивидуального развития организма или под воздействием каких-либо агентов. В частности, этот метод был применен при изучении динамики полиплоидизации печени (Nadal, Zajdela, 1966a, 1966b), а также при исследовании соматической полиплоидизации у покрытосеменных растений (Nagl, 1968). Однако применение одного этого метода имеет ряд недостатков, поэтому впоследствии метод волюмометрии был успешно заменен методом цитоспектрофотометрического определения содержания ДНК, который более точно позволяет судить о степени плоидности интерфазных ядер. Последний был обоснован после открытия в 1948 г. правила относительного постоянства в ядре количества ДНК, соответствующего диплоидному набору хромосом в клетках каждого вида (Boivin et al., 1948; Бродский, 1966; Бродский, Урываева, 1981). Этот метод позволяет оценить уровень плоидности клеток на любой из стадий клеточного цикла.

Цитоспектрофотометрическое измерение содержания ДНК позволило накопить большое количество фактов о встречаемости полиплоидных соматических клеток в различных тканях у различных видов растений и животных. Оказалось, что соматическая полиплоидия является вполне типичным для животных способом клеточной репродукции.

Несколько ранее внимание исследователей к вопросу о полиплоидии было привлечено работами Гейтлера (Geitler, 1939, 1953) и его школы; в 1939 г. им было открыто явление эндомитоза в тканях водоемки *Gerris lateralis* (Geitler, 1939). Согласно этому автору, в ходе классического эндомитоза (эндомитоз insect-типа — по: Nagl, 1978) хромосомы удваиваются, а затем конденсируются; сестринские хроматиды могут разделяться; после этого хромосомы способны возвращаться в интерфазное состояние, как в митотическом цикле. Все эти превращения имеют место внутри ядра без растворения ядерной оболочки, ядрышка и без образования веретена деления, в результате чего степень эндо-

полиплоидии ядра возрастает. На основании цитоморфологических наблюдений Гейтлер, по аналогии с митозом, выделил фазы эндомитоза: эндоинтерфазу, эндопрофазу, эндометафазу, эндоанафазу, эндотелофазу (табл. VII, а, б).

В эндоинтерфазе хромосомы находятся в деконденсированном состоянии — отдельные хромосомы обнаружить невозможно. Стадия эндопрофазы сходна со стадией профазы митоза: появляются хромосомы в виде тонких нитей с узелками хромомер. На стадии эндометафазы хромосомы находятся в спирализованном состоянии, но их морфология несколько отличается от митотических хромосом большей разрыхленностью и меньшей четкостью очертаний хроматид. Хромосомы рассеяны по всему ядру и не образуют метафазную пластинку. В эндоанафазе происходит отхождение сестринских хроматид друг от друга, причем разъединение часто начинается с одного конца. В эндотелофазе хроматиды почти полностью разъединяются, новообразованные парные хромосомы располагаются параллельно друг другу. Гейтлер (Geitler, 1939, 1953) обнаружил такой тип эндомитоза, кроме водоемки *Gerris lateralis*, и у других *Heteroptera* (*Corixa*, *Ligoeum*); Нур (Nur, 1966, 1968) — у мучниного червеца *Planococcus citri* (*Homoptera*); И. И. Соколов (1967а, 1967б) — у ряда видов пауков; И. И. Кикнадзе с соавторами (1975) — у саранчи *Schistocerca gregaria* (*Orthoptera*); А. Г. Истомина (1976) — у многих представителей семейства *Acrididae* (*Orthoptera*); Хейтц (Heitz, 1951) — у ногохвостки *Collembola*; Липп (Lipp, 1953) — у бабочки *Pieris brassicae*.

Таким образом, при эндомитозе в результате репликации хромосом и деления каждой их пары внутри интактной ядерной оболочки происходит удвоение числа хромосом. Так что после m циклов эндомитотической полиплоидизации исходной диплоидной клетки ($2n$) число хромосом доходит до $2^{m+1}n$.

Поскольку при эндомитозе наблюдается увеличение числа эндомитотических хромосом, степень плоидности может быть определена путем подсчета хромосом в постэндомитотических митозах, а также подсчетом числа хромоцентров и гетеропикнотических хромосом.

В отдельных случаях степень эндополиплоидии удавалось определить путем подсчета числа хромосом, остающихся частично конденсированными в интерфазных эндополиплоидных клетках, например в стенке семенных фолликулов саранчовых (Кикнадзе, Истомина, 1972; Истомина, 1976) (табл. VII, д, е), клубня картофеля (Горощенко, Чуксанова, 1965). У некоторых видов насекомых и покрытосеменных растений центромерные районы остаются сравнительно конденсированными в течение интерфазы, что дает возможность подсчитать число хромосом в этих ядрах и определить степень полиплоидии (Tschermak-Woess, 1963; Nagl, 1978). Иногда степень полиплоидии может быть определена по числу гетеропикнотических половых хромосом (Geitler, 1953; Прокофьева-Бельговская, 1960; Кикнадзе, Истомина, 1972).

На основании довольно многочисленных цитоморфологических наблюдений подобного рода было показано, что эндомитоз может выступать одним из механизмов образования полиплоидных клеток.

Кроме эндомитоза *insect*-типа, или классического, как называют его некоторые авторы (Кикнадзе, Тутурова, 1970; Кикнадзе и др., 1975), широко распространены среди покрытосеменных растений (*Angiospermae*) так называемый ангиоспермальный тип эндомитоза. Для этого типа эндомитоза характерно то, что хромосомы в ходе клеточного цикла не выявляются; напротив, хромоцентры, присутствующие в интерфазных ядрах, претерпевают временную деконденсацию, а в следующем цикле в интерфазе наблюдается увеличение числа гетерохроматических глыбок или их величины. Стадия временной деконденсации получила название «Z-фазы» (*Zerstaubungs-stadium* — по: Heitz, 1929) или «дисперсной фазы» (Nagl, 1968).

Концепция эндомитоза в период ее появления, казалось, объясняла механизм образования полиплоидных клеток (Geitler, 1953). Как отмечали позднее В. Я. Бродский и И. В. Урываева (1981) в своей монографии, эта концепция попала на благоприятную почву и была принята многими цитологами. В связи с этим появилось много работ, показавших широкое распространение полиплоидии клеток в животном и растительном мире. Однако, когда начали детально изучать механизмы полиплоидизации, применяя весь арсенал доступных мето-

дов, оказалось, что эндомитоз не так широко распространен, как вначале думали, поскольку во многих случаях способ полиплоидизации оказался совершенно иным.

Исследования, недавно проведенные И. И. Кикнадзе с сотрудниками (Кикнадзе, Тутурова, 1970; Бахтадзе, 1976; Истоминна, 1976; Кикнадзе, Истоминна, 1980, и др.), показали, что морфологические картины классического эндомитоза не всегда являются отражением процесса эндорепродукции (табл. VII). У большинства видов саранчовых в том отделе семенного фолликула, где присутствует множество ядер с метафазными хромосомами эндомитоза, не происходит редупликации ДНК. Исследование синтеза ДНК в этих клетках показало, что он заканчивается за неделю до того, как в данной популяции клеток появятся картины эндомитоза. Напротив, хромосомы эндомитоза на стадии эндометафазы активно включают ^3H -уридин. В этом случае значительная часть материала хромосом конденсирована, но в то же время периферические участки хромосом характеризуются активной транскрипцией. Авторы полагают, что эндомитотические ядра в клетках стенки семенника саранчовых, по-видимому, представляют собой особую форму организации транскрипционно активного интерфазного ядра.

Понятие эндомитоза в настоящее время, как известно, переосмысливается: если раньше эндомитоз считался почти основным способом образования полиплоидных клеток, то теперь, после применения новейших методов исследования, стало совершенно очевидным, что «эндомитотические фигуры» в ряде случаев являются формой организации транскрипционно активного интерфазного ядра и не имеют отношения к репродукции клеток.

На основании такого рода исследований появилось сомнение в том, что эндомитоз может быть способом умножения генома. Однако совсем недавно появились данные о том, что в клетках трофобласта пузырного заноса у человека, а также в некоторых злокачественных опухолях эндомитотические хромосомы включают тимидиновую метку (Therman et al., 1983). На основании этих данных был сделан вывод о существовании двух типов эндомитоза: в одном случае эндомитоз является способом умножения хромосом, в другом он таковым не является, хотя морфологические картины в этих разных случаях могут быть очень сходными — хромосомы конденсируются, как в нормальной профазе, но ядерная оболочка не распадается, и хромосомы продолжают конденсироваться, будучи прикрепленными к ядерной мембране. По мнению Терман с соавторами (Therman et al., 1983), разные типы эндомитоза могут играть принципиально различную роль в дифференцировке клетки или ткани.

Этот пример показывает, что концепция классического эндомитоза нуждается в тщательной проверке с помощью целого комплекса новых методов, что, возможно, либо приведет к переформулировке понятия эндомитоза, либо позволит выяснить границы его применимости. Вопросы о самом механизме полиплоидизации клеток также можно успешно изучать лишь при использовании не одного метода, а целого их комплекса, при этом цитоморфологическое наблюдение позволяет проследить за структурными преобразованиями в клетках на различных этапах их дифференцировки и в онтогенезе, а экспериментальные методы дают возможность установить природу этих преобразований и процессы, сопутствующие им.

Первые попытки систематизировать различные способы полиплоидии клеток на основании морфологии изменения структуры ядра были предприняты Гейтлером (Geitler, 1953) и Чермак-Восс (Tschermak-Woess, 1963, 1971, 1973). Кроме эндомитоза, были описаны и другие циклы хромосомных преобразований, приводящие к образованию полиплоидных клеток, в большей или меньшей степени отличные от эндомитоза, в частности — политения. В случае политении, в противоположность эндомитозу, число хромосом в ходе циклов полиплоидизации не возрастает, а происходит увеличение размеров хромосом. Кроме эндомитоза и политении, в литературе известны другие способы образования полиплоидных клеток: эндоредупликация и полиплоидизирующий (реституционный) митоз, в том числе и митоз с нарушением цитотомии.

Новым этапом в развитии знаний о полиплоидии было изучение полиплоидизирующихся клеток с точки зрения представлений о клеточном цикле, которые

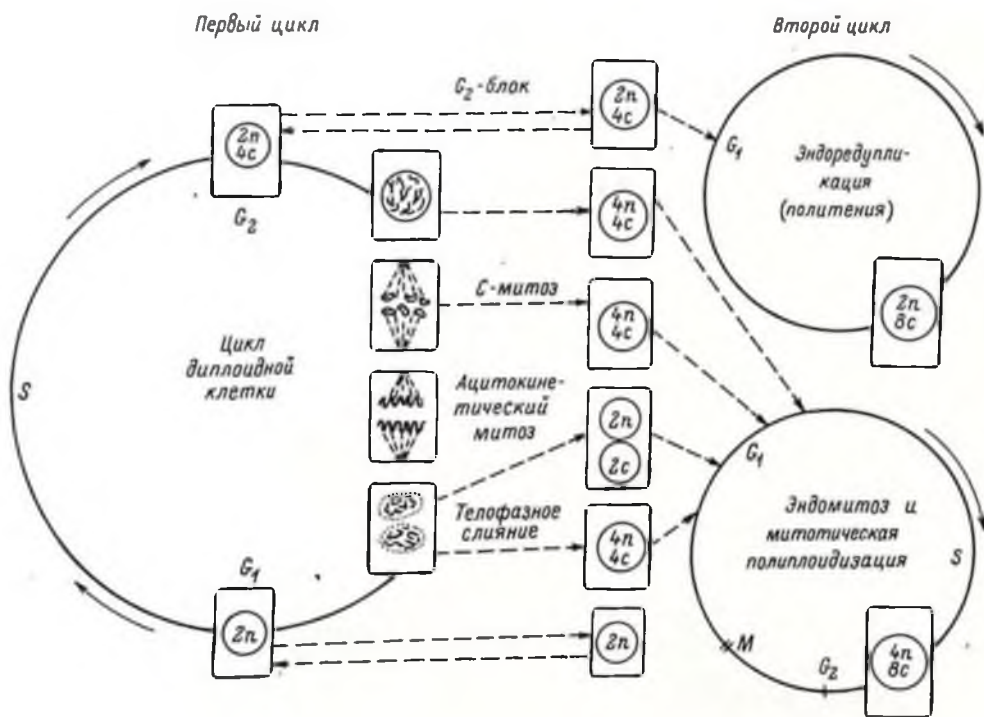


Рис. 6. Механизмы умножения генома в соматических клетках (по: Бродский, Урываева, 1977).

Полиплоидизация осуществляется в результате блокирования любой из стадий митотического цикла. Умножение числа хромосом («истинная» полиплоидия) происходит за счет блокирования поздних фаз митоза. Эндорепродукция и политенизация осуществляются в результате полного или почти полного выпадения митоза.

сформировались на основе первых детальных автордиографических исследований (Howard, Pelc, 1953; Заварзин, 1964, 1967; Жинкин, 1966а). Это привело к представлению о том, что различные пути, приводящие к соматической полиплоидии, связаны с блокированием митотического цикла на одной из его стадий. В зависимости от того, на какой из стадий происходит блокирование цикла, полиплоидизация осуществляется по тому или иному типу. На основании представлений о клеточном цикле В. Я. Бродским и И. В. Урываевой (1970, 1977, 1981) была предложена схема возможных способов образования полиплоидных клеток у позвоночных животных. По тому же принципу построена и другая схема, которая распространяется и на случаи эндомитотической полиплоидизации и политенизации хромосом у беспозвоночных животных и растений (Nagl, 1970а, 1970b, 1972а, 1978, 1981). Эти схемы блокирования отдельных фаз митотического цикла легли в основу современных представлений о механизмах полиплоидизации соматических клеток (Бродский, Урываева, 1970, 1974, 1977; Pearson, 1974b; Nagl, 1978).

Так, согласно схеме Бродского и Урываевой (рис. 6), в случае блока начальных стадий митоза (так называемый G₂-блок) удвоенные во время S-периода хромосомы не претерпевают дальнейших митотических превращений, оставаясь в деспирализованном состоянии, и возобновляют клеточный цикл. В результате образуются тетраплоидные клетки с удвоенным содержанием ДНК в хромосомах. Такие клетки в дальнейшем могут входить в цикл эндоредупликации, при котором многократная репликация ДНК интерфазных хромосом происходит без прохождения всех стадий митоза. Это наиболее укороченный клеточный цикл, который включает только две фазы: синтетическую S и пресинтетическую G. Предполагается, что такой цикл ведет к политении (Бродский, Урываева, 1970, 1977; Nagl, 1970а, 1970b, 1972а, 1978; Pearson, 1974b). Как полагают Бродский и Урываева (1981), при политении из обычного митотического цикла выпадает сам митоз, а в интерфазе объединяются пост- и пресинтетические периоды. Очень близко к политении стоит понятие эндоредупликации. Соотношение между этими понятиями еще до конца не выяснено. Впервые

термин «эндоредупликация» введен Леваном и Хаушкой (Levan, Hauschka, 1953). Появляющиеся в митозах диплохромосомы и учетверенные хромосомы в клетках асцитной опухоли мыши они считали результатом эндоредупликации — цикла удвоения хромосом без их спирализации. В настоящее время этот термин применяют более широко и распространяют не только на случаи появления дипло- и квадруплохромосом, но и на случаи политеннизации ядра (Бродский, Урываева, 1970, 1977, 1981; Nagl, 1978).

Представляется интересным также остановиться на одном из малонизученных типов полиплоидизации клеток — цикле реституции или незавершенном полиплоидизирующем митозе (Nagl, 1962b, 1970c; Tschermak-Woess, 1973; Бродский, Урываева, 1974; Урываева, 1979). Под реституционным митозом подразумевают такое явление, когда хромосомы возвращаются в интерфазное состояние до окончания митоза и не претерпевают преобразований, ведущих к правильному расхождению сестринских хроматид в дочерние ядра. Реституционный митоз (или незавершенный митоз), как полагают многие авторы (Nagl, 1978; Бродский, Урываева, 1981), является результатом блокирования различных фаз митотического деления (профазы, метафазы, анафазы и телофазы).

Блокирование митоза в профазе может привести к разным последствиям. Возможен случай, когда хромосомы, дойдя до стадии профазы, деспирализуются. При неоднократном повторении такого цикла образуются высокополиплоидные клетки. Примером может служить ядерная реституция в профазе в клетках кончика корня лука *Allium* *sepa* и *A. carinatum*. Степень полиплоидии этих клеток часто достигает 64с (Nagl, 1978). Полагают, что если при профазном блоке не происходит деспирализации хромосом, то ядро может переходить на эндомитотический цикл (Nagl, 1970a, 1970c). Для реституционного митоза характерна повышенная клейкость хромосом, большая степень их конденсации, не вполне правильное выстраивание в метафазную пластинку, полная или частичная редукция веретена. Метафазная реституция описана в клетках лука *A. sepa* при блокировании колхицином. Спонтанная метафазная реституция наблюдалась в клетках эндосперма гороха (Nagl, 1978). Анафазная реституция отмечалась при обработке клеток лука *A. sepa* колхицином. Спонтанная метафазная и анафазная реституция встречалась в клетках суспензора чины *Lathyrus latifolius*. При анафазной реституции в клетках чины иногда обнаруживаются гантелевидные ядерные фигуры, образовавшиеся, вероятно, в результате деконденсации хромосом до того, как произойдет их полное расхождение к полюсам.

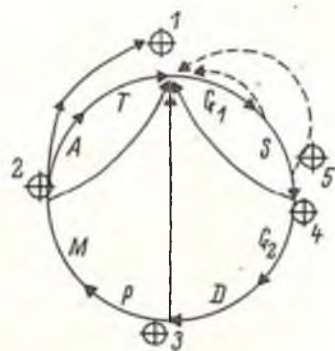
Полиплоидизирующий (реституционный) митоз является, по-видимому, широко распространенным механизмом соматической полиплоидизации в тканях позвоночных животных (Бродский, Урываева, 1974, 1977; Урываева, 1979). Приведенные данные свидетельствуют о том, что реституция может возникать как в норме, так и в результате экспериментальных воздействий на митотический аппарат клетки. Частным случаем реституционного митоза является так называемый К-митоз, который может быть вызван в результате нарушения сборки микротрубочек веретена колхицином.

И. В. Урываева (1979) при рассмотрении данных о полиплоидизации клеток печени отмечает, что процессы, которые имеют место при реституции, по всей вероятности, являются эволюционно закрепленными механизмами полиплоидизации ядер, необходимыми для большей устойчивости гепатоцитов к мутагенным факторам.

Нарушения митоза на последнем его этапе — цитотомии — приводят к возникновению двуядерной клетки с диплоидным набором хромосом в каждом из ядер. Если в цикле реституции интерфазная деспирализация и разборка митотического аппарата наступают до завершения митоза, в ана- или телофазе, то в данном случае осуществляется полное разделение ядер, которое не дополняется, однако, цитотомией. Получившиеся таким образом двуядерные клетки особенно типичны для паренхимы печени мышей и крыс (Beams, King, 1942; Wilson, Leduc, 1948; Nadal, Zajdela, 1966a, 1966b) и для слюнных желез и вегетативных ганглиев (Бродский, Урываева, 1977); они встречаются также в трофобласте соединительной зоны плаценты крысы (Зыбина, 1981в). Следую-

Рис. 7. Схема различных циклов ядра, приводящих к репродукции и эндорепродукции хромосом (по: Nagl, 1981).

Круг — обычный митотический клеточный цикл растительной клетки. G_1 — пресинтетическая интерфаза, S — период синтеза ДНК, G_2 — премитотическая интерфаза, D — дисперсная стадия, P — профаза, M — метафаза, A — анафаза, T — телофаза. Цифровые символы — прогрессивное укорочение митотического цикла, вероятно, путем репрессии (заглушения) соответствующих генов: 1 — пропуск цитокинеза, приводящий к многоядерному состоянию; 2 — пропуск карокинеза, приводящий к полиплоидному состоянию; 3 — пропуск митоза, за исключением дисперсной стадии, приводящий к эндомитозу растительного ангиоспермального типа, который часто не отличается от эндоредупликации; 4 — возвращение к стадии G_1 немедленно после репликации ДНК, приводящее к политетии; 5 — укорочение клеточного цикла в течение S -периода, приводящее к дифференциальной репликации ДНК.



щий митоз может привести к образованию одноядерных и двоядерных клеток более высокой степени полиплоидии (Бродский, Урываева, 1970, 1977, 1981; Nagl, 1978).

Нагль (Nagl, 1970a, 1970b, 1972a, 1978, 1981) также предлагает схему модификаций клеточного цикла, приводящих к умножению генома (рис. 7). Особенность этой схемы состоит в том, что она более подробно объясняет такие типы полиплоидизации, которые возникают в результате блокирования цикла либо в постсинтетической интерфазе (G_2 -блок), либо на самых ранних стадиях митоза, до растворения ядерной оболочки и формирования веретена деления. Такие случаи полиплоидизации, характерные именно для растений и беспозвоночных животных, легли в основу обобщений, сделанных этим автором. Цикл репликации ДНК, происходящий без растворения ядерной оболочки и образования веретена, Нагль называет «эндоциклом». Согласно Наглю, эндоцикл включает в себя понятия и эндомитоза и эндоредупликации. При этом автор акцентирует внимание на различии между эндомитозом и эндоредупликацией: при эндомитозе происходят структурные изменения хромосом, сравнимые с таковыми в митозе, в то время как при эндоредупликации митозоподобные преобразования в ядре не видны. Цикл политенизации, согласно Наглю, относится к эндоредупликации.

Как известно, в политенных ядрах низких уровней плоидности не обнаруживаются политенные хромосомы. Однако оказалось, что под действием некоторых агентов в таких ядрах могут появляться диплохромосомы, квадруплохромосомы и октуплохромосомы. Такой тип митозов иногда встречается спонтанно в клеточной культуре, но может быть вызван фитогормонами и другими агентами у растений (D'Amato, 1952; Nagl, 1970f), животных и человека (Schwartz, Schnedl, 1966; D'Amato, 1977). Для политенных ядер с более высоким уровнем плоидности переход к митозу, как правило, невозможен. Говоря о полиплоидизации, чаще всего мы имеем в виду полиплоидизацию в широком смысле слова, т. е. процесс, приводящий к кратному умножению числа геномов в клетке. Частным случаем такого рода явлений можно назвать «истинную» полиплоидизацию, при которой умножение геномов осуществляется в результате кратного увеличения числа хромосом (незавершенный митоз, митоз без цитотомии, К-митоз). Существуют способы умножения геномов, отличные от «истинной» полиплоидизации. Так, при эндоредупликации может не происходить разделения сестринских хроматид, умножение геномов в клетке осуществляется без увеличения числа хромосом и приводит к политении.

Данные приведенных обзоров свидетельствуют о том, что наблюдается широкое разнообразие способов полиплоидизации ядер. При этом такие типы клеточных циклов, как политения и эндомитоз классического и ангиоспермального типов, несмотря на различные морфологические проявления, являются сходными в том отношении, что все преобразования, совершающиеся в цикле, происходят без столь характерных для митоза событий, как растворение ядра, образование веретена деления. В связи с этим представляется целесообразным обозначить все эти типы клеточных циклов общим названием — «эндорепродукция», предложенным Мэзия (Mazia, 1963) и А. Г. Истоминой (1976). Под эндорепродукцией эти авторы понимают все

явления умножения массы ядерной ДНК и увеличения числа хромосом, происходящие без растворения ядерной оболочки, т. е. эндомитозы классического и ангиоспермального типов, G_2 -блок и политению.

Наиболее общие особенности политении и ее распространение в животном и растительном мире

На явлении политении стоит остановиться более подробно в связи с задачей рассмотрения особенностей дифференцировки клеток трофобласта. Политенные хромосомы впервые были описаны в конце прошлого века Бальбиани (Balbiani, 1881) у личинок *Ghiropomidae*, но лишь в 1933 г. Хейтц, Бауэр (Heitz, Bauer, 1933) и Пайнтер (Painter, 1933) установили, что эти структуры являются хромосомами. Н. К. Кольцов (1934) впервые предположил, что гигантские хромосомы достигают огромного размера путем умножения количества составляющих их нитей — хромонем. Мёллер (Muller, 1935) предложил рассматривать политенные хромосомы как сильно раскрученные хромосомы на стадии интерфазы или ранней профазы. В дальнейшем эта точка зрения была подтверждена в результате автордиографических исследований: политенные хромосомы активно синтезируют ДНК и РНК (Keyl, Polling, 1963; Кикнадзе, 1972, и др.).

В настоящее время считается, что морфологические и функциональные особенности политенных хромосом обуславливаются следующими факторами. Во-первых, гомологичные хромосомы объединены попарно вследствие соматической конъюгации; благодаря этому в клетках с политенными хромосомами обнаруживается число хромосом, равное гаплоидному. Во-вторых, в результате последовательно протекающих циклов эндоредупликации дочерние хромосомы остаются связанными друг с другом, вследствие чего происходит накопление соединенных хромонем и увеличение хромосом в толщину. В-третьих, эти хромосомы характеризуются ослаблением способности к характерному для митоза циклу спирализации—деспирализации хромосом, вследствие чего они перманентно находятся в состоянии интерфазы и потому сильно деспирализованы, чем и объясняется их значительно большая длина по сравнению с метафазными хромосомами. Плотность соединения хроматид в политенной хромосоме, по-видимому, связана со степенью их растяжения и зависит от уровня эндополиплоидии (Ashburner, 1970; Кикнадзе, 1972; Nagl, 1978). Беерман (Beermann, 1962) рассматривает высокополитенную хромосому как пучок элементарных нитей, скрученных как в кабеле; хромосомы при этом имеют цилиндрическую форму. Однако такой вид политенная хромосома приобретает лишь на поздних этапах полиплоидизации. Форма хромосомы изменяется в зависимости от числа составляющих ее хромонем: в начале развития она представляет собой плоскую ленту, затем превращается в меандр и лишь впоследствии становится цилиндрической.

Следует отметить, что политенные хромосомы в слюнных железах *Diptera* достигают очень высоких степеней плоидности — до 8000—32 000с (Кикнадзе, 1972).

Гигантские хромосомы встречаются главным образом в ядрах высокодифференцированных клеток, для которых характерен интенсивный обмен веществ: например, в слюнных железах, кишечнике, мальпигиевых сосудах. Рост этих тканей происходит в основном за счет увеличения размера клеток, а не их числа.

Из всей группы беспозвоночных животных политенные хромосомы известны только для насекомых. Подавляющее большинство сообщений о политенных хромосомах касается представителей отряда *Diptera* (Beermann, 1962, 1972; Ashburner, 1972; Ashburner et al., 1974; Nagl, 1978); они описаны также в слюнных железах ногохвостки *Collembola* (Cassagnau, 1968, 1970, 1974). У насекомых изучение политенных хромосом проводилось как на личиночных стадиях (слюнные железы, средняя и прямая кишка, мальпигиевы трубочки и жировое тело), так и на взрослых животных (питающие клетки овария, мальпигиевы трубочки).

Как известно, для политенных хромосом характерна поперечная дисковая исчерченность. Диски образованы в результате точного соединения гомологич-

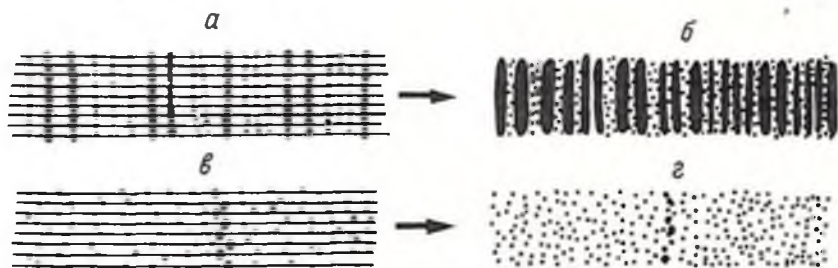


Рис. 8. Схема образования дискового рисунка политенных хромосом (по: Nagl, 1981).

а, б — классический тип политенции у двукрылых; *а, з* — неклассический тип политенции у покрытосеменных растений; *а, а* — предполагаемая схема соединения хромомером; *б, з* — видимая морфология хромосом. В случае неклассической политенции образование дискового рисунка не происходит из-за того, что хромомеры соседних хромомером не располагаются точно друг над другом.

ных или парных хромомером соседних хромомером (рис. 8, *а, б*). В ряде участков на политенных хромосомах видны небольшие вздутия — пuffs и кольца Бальбиани. Показано, что пuffs могут образоваться из дисков и представляют собой разрыхленный, сильно деспирализованный участок политенной хромосомы. Для специфических тканей на определенных стадиях развития характерен соответствующий рисунок расположения дисков и пuffs — спирализованных и разрыхленных участков политенной хромосомы. Исходя из этого наблюдения, Беерман (Beermann, 1962) высказал предположение, что последовательность образования пuffs отражает порядок активации генов.

Политенные хромосомы несколько иного строения встречаются иногда в энтоцитах Orthoptera (Pearson, 1974a): хромосомы в ядрах этих клеток в меньшей степени обнаруживают способность к соединению отдельными хромомером, чем в политенные хромосомы Diptera, поэтому в хромосомах Orthoptera дисковая структура слабо выражена. По мнению Пирсона, эндомитотическая конденсация препятствует тесному соединению хромомером.

По представлениям некоторых авторов, политенные хромосомы в действительности составлены индивидуальными эндохромосомами (см. обзор: Nagl, 1978, 1981). Отдельные фибриллы политенной хромосомы иногда видны под световым микроскопом, особенно после частичного переваривания их трипсином (Beermann, 1962), а также на электронограммах (Sorsa, 1969, 1972; Ченцов, Поляков, 1974, и др.). При этом электронно-микроскопическое изучение является следующим этапом в исследовании политенных хромосом, позволяющим уточнить морфологию дисковых, междисковых и puffовых районов и, таким образом, дать более полную характеристику структурных единиц политенных хромосом: оно дает возможность получить конкретное представление о процессе формирования пuffs на основе дисков (Перов и др., 1975).

Наиболее изученными, как уже говорилось, являются политенные хромосомы Diptera. Кроме того, политенные хромосомы достаточно детально изучены в макронуклеусах простейших и в клетках покрытосеменных растений. У некоторых ресничных инфузорий в зачатке макронуклеуса происходит формирование политенных хромосом (Голикова, 1964; Alonso, Perez-Silva, 1965; Ammermann, 1965, 1971; Radzikowski, 1967, 1973; Райков, Аммерман, 1976, и др.). Этот процесс был исследован М. Н. Голиковой (1964, 1965) на световом уровне у паразитической инфузории *Nyctotherus cordiformis* (отряд Heterotrichida). Вначале в растущем макронуклеусе становится различимой структура хромосом в виде клубка нитей. На одной из ранних стадий часть хромосомного материала макронуклеуса элиминируется в цитоплазму. Микроскопическая картина строения политенных хромосом развивающегося зачатка напоминает таковую в гигантских хромосомах слюнных желез Diptera. Политенные хромосомы макронуклеусов состоят из чередующихся узких дисков и широких междисковых пространств. Вероятно, все хромосомы соединены друг с другом последовательно (конец в конец) в одну политенную хромосому, так как на тотальных препаратах не видно ни одного свободного конца. На ультраструктурном уровне была подтверждена политенная природа этих хромосом (Винникова, Голикова, 1978).

У некоторых инфузорий политенные хромосомы представляют собой временные структуры. В 1965 г. Аммерман (Ammermann, 1965) обнаружил формирование ярко выраженных политенных хромосом в виде плоских лент с типичными поперечными дисками в развивающемся после конъюгационного зачатка макронуклеуса инфузории *Stylonychia mytilus* (отряд Hypotrichida). Развитие зачатка начинается с конденсации всех хромосом диплоидного деривата синкариона. Несмотря на неизменное число хромосом, содержание ДНК в зачатках этой стадии уже в четыре раза превосходит исходный уровень, что указывает на начавшуюся политенизацию хромосом. Однако впоследствии не все хромосомы деривата синкариона претерпевают политенизацию: лишь $1/3$ всех хромосом раннего зачатка макронуклеуса деконденсируется, а остальные $2/3$ остаются конденсированными и в дальнейшем развитии не участвуют (дегенерируют). Имеющиеся хромосомы претерпевают пять-шесть циклов редупликации хромонем. Политенизирующиеся хромосомы становятся лентовидными, в них появляются поперечные диски (Ammermann et al., 1974; Райков, Аммерман, 1976). Весьма вероятно, пары гомологичных политенных хромосом соединяются друг с другом параллельно, диск к диску, т. е. имеет место соматическая конъюгация, поскольку на хромосомах *S. mytilus* видны участки асинопсиса.

В дальнейшем политенные хромосомы проходят ряд сложнейших преобразований: они разрезаются поперек по междисковым пространствам; каждый диск изолируется внутри зачатка макронуклеуса в особый немембранный пузырек с фибриллярной стенкой (Kloetzel, 1970; Murti, 1973). Затем происходит снижение уровня ДНК к диплоидному, при этом элиминируется 93 % всей имеющейся в зачатке ДНК. Синтез ДНК в макронуклеусе возобновляется позднее, содержание ДНК вновь возрастает примерно в 32 раза по сравнению с тем ее количеством, которое сохранилось в зачатке, и лишь после этого макронуклеус приобретает дифинитивную форму. Зрелый макронуклеус не содержит, таким образом, ни целых геномов, ни хромосом, но лишь свободные фрагменты хромосом (группы гомологичных хромомеров). На примере распределения политенных хромосом в макронуклеусе *S. mytilus* была предложена так называемая хромомерная модель строения макронуклеуса (Райков, Аммерман, 1976; Райков, 1982).

Сходный тип политенизации описан и у инфузории *Euplotes aediculatus* (Ammermann, 1971). Таким образом, при развитии макронуклеуса Hypotrichidae происходят сложные перестройки генома, связанные с избирательной элиминацией и репликацией определенных последовательностей ДНК. Так, у *Stylonychia* из 11 циклов репликации ДНК лишь первые шесть приходятся на развитие политенных хромосом.

В политенных хромосомах зачатка макронуклеуса инфузории *Nyctotherus* описана не поперечная фрагментация политенных хромосом, а их расщепление на отдельные нити, которые могут оказаться сборными хромосомами (Винникова, Голикова, 1978). Таким образом, несмотря на сходное начало развития макронуклеуса, взрослый макронуклеус *Nyctotherus* скорее всего имеет не хромомерное, а геномное (субнуклеусное) строение (Райков, Аммерман, 1976).

Приведенные примеры показывают, что у ресничных инфузорий политенные хромосомы присутствуют в онтогенезе клетки довольно короткое время. Политенизацию часто претерпевает не весь геном, а лишь небольшая его часть.

Несколько необычные по своей морфологии политенные хромосомы, у которых не всегда четко обнаруживается дисковое строение в связи с неплотным соединением хромонем, характерны для многих растений (табл. VIII). Исследования, проведенные цитологами австрийской школы под руководством Чермак-Восс на широком круге растительных объектов, показали, что политенные хромосомы часто встречаются у покрытосеменных растений в ядрах антипод, синергид, суспенсора и эндоспермального гаустория (Geitler, 1953; Tschermak-Woess, 1956, 1971; Hasitschka, 1956, 1957; Hasitschke, 1957, 1959; Nagl, 1962a, 1962b, 1974, 1978). В нашей стране сходные результаты были получены Е. В. Ивановской (1968, 1973; 1983; Ивановская, Прокофьева, 1963). В отличие от хромосом слюнных желез *Diptera*, для политенных хромосом

растений не характерна обязательная соматическая конъюгация гомологов. Вследствие этого в ядрах суспенсора многих растений обнаружено диплондное число хромосом, в ядрах эндосперма — триплондное, и лишь в антиподах настурии — гаплондное (Geitler, 1953; Nagl, 1962b, 1978; Tschermak-Woess, 1971, 1973). В некоторых случаях соединение хромосом происходит не по всей их длине, а ограничено лишь определенной частью (табл. VIII, а—в). Например, в гигантских ядрах эндоспермального гаустория погремка, *Rhinanthus*, хромосомы тесно прилегают друг к другу только в участках компактного и разрыхленного гетерохроматиновых районов (табл. VIII, д), в то время как в эухроматиновых районах они лежат раздельно (Tschermak-Woess, Hasitschka, 1953; Tschermak-Woess, 1957, 1973). Интересно отметить, что в одном ядре хромосомы могут иметь различную морфологию: например, в гигантских ядрах погремка присутствуют два типа хромосом — более длинные (*L*), имеющие политенное строение, и очень короткие (*K*) хромосомы. Последние образуют звездчатые эндохромоцентры.

Наиболее изученными являются политенные хромосомы в базальных клетках суспенсора (подвесок) фасоли (табл. VIII, а, б). Подвесок представляет собой орган, доставляющий питательные вещества от эндосперма к зародышу, и в этом он функционально сходен с трофобластом. Формирование политенных хромосом во время роста ядер клеток суспенсора происходит постепенно. Сначала в ядрах обнаруживается только соединение блоков гетерохроматина сестринских хроматид, при этом эухроматические районы находятся на значительном расстоянии друг от друга. С каждым последующим раундом редупликации политенные хромосомы выявляются все более отчетливо. На основании различий длины хромосом, отношения длин плеч и распределения гетерохроматических сегментов для политенных хромосом фасоли *Phaseolus coccineus* составлена предварительная идиограмма (Nagl, 1967). Однако не каждая хромосома набора может быть идентифицирована с желаемой точностью.

Политенные хромосомы самых крупных клеток суспенсора в среднем в 30 раз длиннее, чем метафазные хромосомы, и в 15 раз длиннее, чем соответствующие профазные. В отличие от хромосом *Diptera*, политенные хромосомы фасоли не обнаруживают регулярного дискового строения; хромосомы располагаются не обнаруживая регулярного дискового строения; хромосомы располагаются параллельно друг другу, но тесное их соединение наблюдается только в отдельных участках хромосомы, часто в районах крупных гетерохроматических блоков.

Отсутствие отчетливых дисков в политенных хромосомах растений происходит, по-видимому, из-за того, что соответствующие друг другу хромомеры соседних хромосом не присоединяются плотно друг к другу (рис. 8, в, г). Значительная степень разделения сестринских хромосом на больших участках хромосомы может быть связана и со стадией синтеза ДНК в цикле политенного ядра (Brady, Clutter, 1974).

Однако следует отметить, что политенные хромосомы суспенсора фасоли иногда способны приобретать дисковое строение: спонтанно — в небольших сегментах хромосомы, а под воздействием некоторых факторов — по всей ее длине. Наиболее четко дисковое строение выявляется в случае воздействия на растение более низких или более высоких, чем в норме, температур, которые приводят к уменьшению метаболизма клеток (Nagl, 1969a, 1969b, 1970d, 1970e, 1970g, 1974).

Когда растения выращивались при низких температурах (12 °C в течение дня и 8 °C — ночью), политенные хромосомы, по-видимому, инактивировались, становились более конденсированными, приобретая отчетливый дисковый рисунок (рис. 9; табл. VIII, б). Эффективным в этом смысле оказывается также воздействие неблагоприятных световых периодов (Nagl, 1973a), ингибирование синтеза РНК актиномицином D (Nagl, 1973c) и воздействие высоких концентраций ионов кальция (Nagl, 1974). В этих случаях степень конденсации политенных хромосом растений повышается, и они, приобретая дисковое строение, в большей степени напоминают хромосомы *Diptera*.

Наиболее ярко изменения в структуре хромосом под воздействием температурных агентов проявляются в ядрышкообразующих хромосомах суспенсора фасоли (Nagl, 1970d, 1978). В активных клетках хромосома в районе ядрышкового организатора сильно расщепляется на олиготенные пучки и единичные

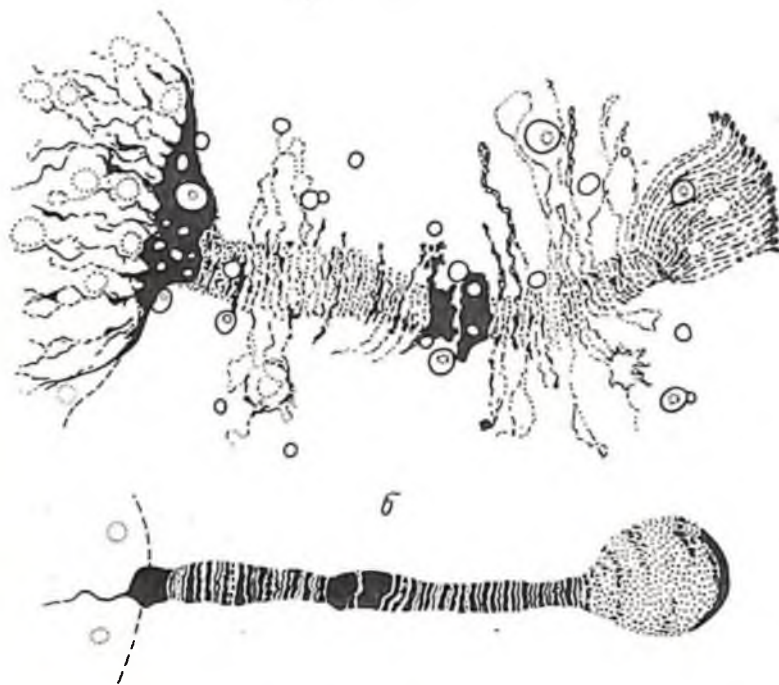


Рис. 9. Структура политенных хромосом и района ядрышкового организатора суспенсора фасоли (по: Nagl, 1976a).

а — при высоком уровне синтеза РНК эухроматин деконденсирован, отдельные хромомеры на поверхности хромосомы деконденсируются и образуют петли; б — при низком уровне синтеза РНК эухроматин функционально реактивен и образует диски в результате слияния хромомеров. В обоих случаях гетерохроматические районы конденсированы, за исключением района ядрышкового организатора.

хроматиды, которые пронизывают массу ядрышка, образуя хорошо развитый пуфф (рис. 10, б, в); в инактивированных клетках район ядрышкового организатора сильно конденсируется, фибриллы, расположенные внутри ядрышка, соединяются, образуя единый тяж (рис. 10, а, г). В ядрах клеток гаустория фасоли вне ядрышкового организатора образуется множество микроядрышек (Avanzi et al., 1970; Nagl, 1970d, 1970e, 1970f, 1973b, 1974).

Такая организация политенных хромосом у растений, при которой хромомеры очень слабо соединены по их длине, приводит к тому, что наряду с политенными хромосомами, например в ядрах антипод пролески *Scilla bifolia*, присутствуют ядра с диффузным расположением хромосомного материала (Nagl, 1978).

При образовании гигантских хромосом у растений тесное прилегание хромомером варьирует в значительной степени: от полного присоединения хромомером по всей длине хромосомы (Phaseolus — по: Nagl, 1967) до локального — в области крупных хромоцентров в гетерохроматических районах (Papaver, *Rhoeo discolor*, *Thesium* — по: Nagl, 1978, 1981). Такая лабильность наблюдается даже в пределах одного организма (Papaver; рис. 11) и даже одного ядра (*Rhinanthus* и *Thesium*). В клетках антипод мака (Papaver) описано несколько типов ядер: 1) с деспирализированными хромосомами, связанными в области гетерохроматических блоков, объединенных в восемь хромоцентров; 2) с деконденсированными изолированными хроматиновыми фибриллами (Tschermak-Woess, 1971, 1973; Nagl, 1978, 1981); 3) с раздельно расположенными эндохромосомами; 4) с восемью гигантскими хромосомами.

Несмотря на обилие литературных данных о вариабельности структуры политенных хромосом у растений, функциональное значение изменений структуры хромосом, их связь с теми или иными стадиями жизненного цикла клетки (или организма) и с воздействием различных факторов в подавляющем большинстве случаев остаются пока невыясненными (Nagl, 1981).

Рис. 10. Полусхематическое изображение ядрышкового организатора политенной хромосомы клеток суспенсора фасоли; изменения района вторичной перетяжки, спутника и различных элементов ядрышка под действием температурных шоков (по: Nagl, 1970d).

а, г — под действием низких ($12-8^{\circ}\text{C}$) и высоких (45°C) температур политенная хромосома конденсируется, вторичная перетяжка и спутник также конденсированы и четко различимы; б, в — при $27-22^{\circ}\text{C}$ и при шоковой температуре 25°C политенная хромосома деконденсируется, район ядрышкового организатора образует пuffed. Отчетливо выявляются различия в структуре района вторичной перетяжки и спутника при разных температурах.

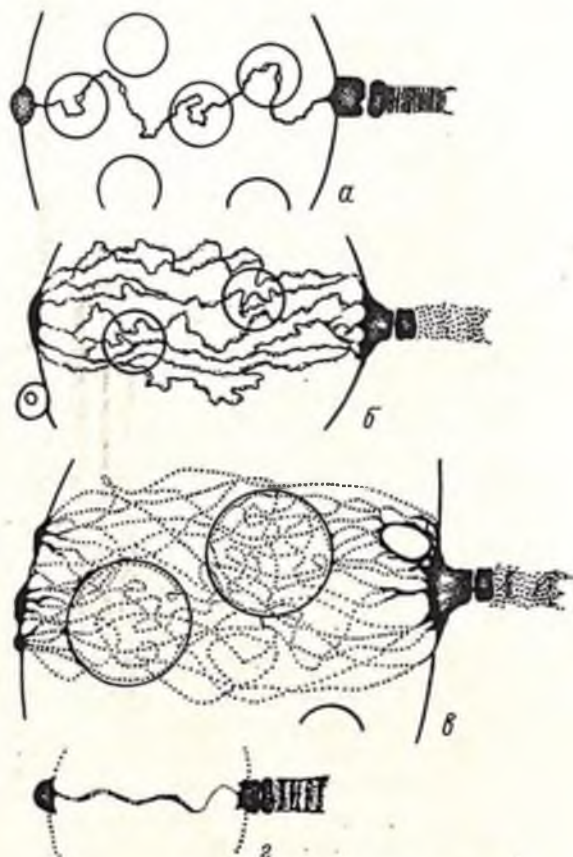
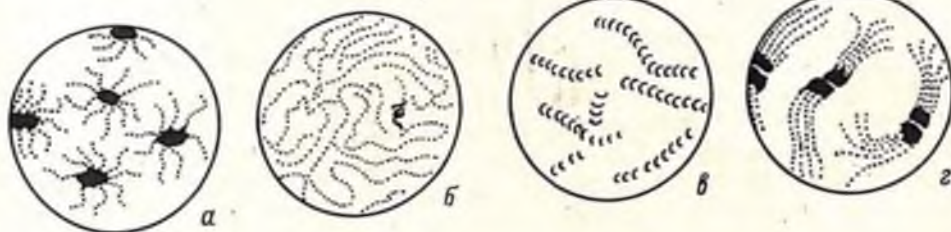


Рис. 11. Схематическое изображение структуры эндополиплоидных ядер антипод мака (по: Nagl, 1981).

а — эндохромосомы с радиально отходящими эухроматическими частями хромосом, б — деконденсированные хроматиновые нити, в — спирализованные хроматиновые нити, г — пучки политенных хромосом.



Многоядерные клетки и синцитий как одна из форм полиплоидии

Еще одну примечательную форму полиплоидии представляют собой симпласты — многоядерные образования, не разделенные на отдельные клетки. Симпласты встречаются довольно часто в некоторых клеточных популяциях при имплантации и формировании плаценты у человека и грызунов.

Как известно, трофобласт человека по мере погружения имплантирующегося зародыша в ткани эндометрия быстро разрастается и становится многослойным. На поверхности плодного пузыря возникают первичные ворсины, которые представляют собой сплошные тяжи цитотрофобласта (Жемкова, 1956; Кнорре, 1956, 1969). Немного позднее поверхность представляет собой непрерывно-плазмодиальное строение. Синцитиотрофобласт представляет собой непрерывный слой базофильной цитоплазмы, ядра в котором ориентируются либо параллельно его свободной поверхности, либо приобретают палисадообразное расположение. Под поверхностным слоем плазмодиального трофобласта располагается клеточный трофобласт. Наружный покров ворсин и во второй половине беременности местами состоит из двух слоев трофобласта: поверхностного плазмодиального и клеточного (клетки Лангганса). Клетки Лангганса существуют как резерв для восполнения плазмодиального трофобласта и длительное

время сохраняют способность делиться митозом (Жемкова, Топчиева, 1973). Таким образом, синцитиальный трофобласт постоянно присутствует на поверхности ворсин в плаценте человека. Он также найден в плаценте других млекопитающих. Как показали данные электронной микроскопии, плазмоднальный трофобласт образуется уже на начальных этапах имплантации у кролика (Larsen, 1961; Enders, Schlafke, 1969; Steer, 1971), морской свинки, хорька, броненосца, летучей мыши (Enders, Schlafke, 1969). У мыши и крысы синцитиальный трофобласт образуется только в лабиринтном отделе плаценты (Jollie, 1964; Enders, Schlafke, 1965; Franke, 1969).

По мнению некоторых авторов, синцитий достоверно присутствует лишь в медиальном слое лабиринтного отдела плаценты мыши (Hernandez-Verdun, 1972). Не исключена возможность, что образование синцитиотрофобласта происходит путем слияния клеток. Таким образом, синцитиотрофобласт представляет своеобразную форму клеточной полиплоидии, способы образования которой еще недостаточно изучены.

Высказывались предположения также о происхождении гигантских клеток трофобласта грызунов путем слияния отдельных клеток (Saccoman et al., 1967; Avery, Hunt, 1969), однако при специальном исследовании данного вопроса это не подтвердилось. Так, например, оказалось, что одноядерные гигантские клетки трофобласта не образуются путем слияния клеток (Chapman et al., 1972; Gearhart, Mitz, 1972; Graham, 1973; Ansell et al., 1974). Примеры образования полиплоидных клеток путем слияния встречаются в некоторых тканях животных. Одним из способов образования гигантских клеток инородных тел (ГКИТ) в очаге асептического воспаления является слияние синцитиально связанных камбиальных элементов, макрофагов или отдельных клеток (Linz-bach, 1955; Хрущов и др., 1963). Как показали более поздние данные, полученные с применением электронно-микроскопических и автордиографических методов, на первых этапах формирования ГКИТ имеет место процесс деления ядер путем незавершенного митоза без цитотомии. Это приводит к образованию элементов, содержащих небольшое количество ядер. В то же время происходит, по-видимому, процесс слияния клеток, о чем свидетельствует обнаружение как меченных, так и немеченных ^3H -тимидином ядер и наличие клеток с нечетным числом ядер. В дальнейшем слияние клеток становится, по всей вероятности, основным механизмом образования ГКИТ (Хрущов и др., 1978).

При нормальной дифференцировке скелетной мускулатуры у млекопитающих также наблюдается слияние клеток-миобластов. Для того чтобы доказать факт слияния миобластов в скелетных мышцах, был применен метод изозимного анализа с использованием аллофенных мышечных с генотипическими различиями по локусам изоцитратдегидрогеназы (Mintz, Baker, 1967), малатдегидрогеназы (Baker, Mintz, 1969) и глюкозофосфатизомеразы (Gearhart, Mintz, 1972). В скелетных мышцах аллофенных мышечных были найдены гибридные формы всех этих энзимов, что свидетельствует о возможности слияния клеток при дифференцировке мышечных волокон.

Единичные достоверные случаи слияния клеток описаны у беспозвоночных. Так, например, в клетках жирового тела клопа *Rhodnius* при голодании личинок происходит слияние соседних клеток с образованием двух- или многоядерной клетки с последующим слиянием и ядер (Wigglesworth, 1967). У другого представителя *Hemiptera*, *Panstrongilus medistus*, также было обнаружено слияние клеток и ядер в мальпигиевых сосудах голодающих особей (Mello, 1978). Явление слияния клеток и ядер имеет место не только в соматических, но и в половых клетках. Весьма подробно такие процессы охарактеризованы И. И. Соколовым (1955) в сперматогенезе у саранчовых. Слияние клеток и ядер происходит под влиянием самых различных химических агентов. В процессе слияния участвует обычно относительно небольшое количество клеток, причем слияние может затрагивать разные стадии сперматогенеза — от молодых сперматоцитов и до сперматид включительно. При слиянии последних образуются многоядерные сперматоциты. Внутри них ядра утрачивают первоначальное равномерное распределение, начинают перемещаться навстречу друг другу и вскоре приходят в непосредственный контакт. В результате формируются гигантские ядра с различной степенью полиплоидии. Особенно часто встреча-

ются гигантские ядра на пахитенной стадии. Если в таких пахитенных ядрах X-хромосомы, отличающиеся резко выраженным гетеропикнозом, еще не утратили своего первоначального расположения, то по числу их можно определить степень полиплоидии.

При слиянии сперматид на стадии проспермиев образуются многохвостые сперматиды. Гигантские сперматоциты и многохвостые сперматиды, как правило, претерпевают дегенерацию. Имеются сообщения о полиплоидных гаметах и в мейозе человека (Sasaki, Makino, 1965; McIlree et al., 1966; Matano, 1968) и некоторых грызунов (Погосянц, 1971; Погосянц, Бруйко, 1971).

Обобщая приведенные факты, следует отметить, что еще одним из механизмов полиплоидизации может быть слияние клеток. Однако для объяснения возможности возникновения многоядерных клеток в результате слияния одноядерных данные обычных цитоморфологических методов следует подкреплять специальными исследованиями с применением биохимических, автордиографических и других методов, позволяющих с большим основанием делать заключения о происхождении этих клеток (Бродский, Урываева, 1981).

Таким образом, в связи с тем что механизмы полиплоидизации клеток отличаются значительным разнообразием, не всегда можно с уверенностью судить о способах образования полиплоидных клеток, используя даже наиболее современные методы, например цитоспектрофотометрию и автордиографию. Часто для выяснения этого вопроса необходимо применять целый комплекс методов, среди которых наиболее важным остается изучение морфологии ядерных структур как на светооптическом, так и на электронно-микроскопическом уровне. При этом необходимо учитывать также функциональные особенности дифференцировки изучаемых клеток, которые в свою очередь могут оказывать влияние на характер ядерных преобразований при полиплоидизации.

МНОГОКРАТНОЕ УМНОЖЕНИЕ ГЕНОМА В ГИГАНТСКИХ КЛЕТКАХ ТРОФОБЛАСТА И В ДЕЦИДУАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ

Кариометрическое определение степени ploидности гигантских клеток трофобласта крысы

На возникновение гигантских клеток трофобласта в плаценте млекопитающих и человека обращали внимание многие исследователи, тем не менее вопрос о природе роста этих клеток был поставлен сравнительно недавно. Бриджмен (Bridgman, 1948a, 1948b), изучая гигантские клетки трофобласта в плаценте белой крысы, обратила внимание на то, что в них отсутствуют митозы. После введения колхицина митозы также не удалось выявить. На основании этих наблюдений Бриджмен предположила, что гигантские клетки трофобласта являются полиплоидными. Оказалось, что в ходе роста гигантских клеток трофобласта в ядрах наблюдается увеличение содержания ДНК (Макаренко, 1954; Зыбина, 1958a, 1960). Эти факты также указывали на полиплоидную природу ядер в гигантских клетках трофобласта.

Перед нами встала задача установить, действительно ли клетки трофобласта являются полиплоидными, и определить степень ploидности ядер. Возможность определения ploидности по количеству эндохромосом была исключена, поскольку клетки трофобласта, став гигантскими, не только не делятся митозом, но в них не обнаруживаются и типичные хромосомы эндомитоза, как в классических объектах, описанных Гейтлером (Geitler, 1953). Подсчет ядрышек часто представляет собой относительно простой метод определения уровня полиплоидии ядра (Gates, 1942), однако в нашем случае не удалось установить степень полиплоидии в ядрах по количеству ядрышек, так как по мере роста клеток наблюдается лишь увеличение единственного ядрышка. Таким образом, оказалось невозможным определить степень полиплоидии ядер гигантских клеток трофобласта на основании морфологических показателей (количества хромосом, эндохромосом, ядрышек).

Мы выбрали для нашей цели еще один относительно простой способ — измерение объемов ядер (Зыбина, Тихомирова, 1963). Якоби (Jacobi, 1925) установил, что при полиплоидизации клеток ядра не постепенно увеличиваются в размерах, а происходит ритмическое увеличение их объемов, поэтому уже в то время, когда методы цитоспектрофотометрии были недостаточно развиты, удалось определить степень полиплоидии методом измерения объемов ядер на 5—12-е и 6—18-е сут развития гигантских клетках трофобласта соответственно (Зыбина, Тихомирова, 1963). Ядра клеток трофобласта неимплантированной зародышей крысы (Зыбина, Тихомирова, 1963) сут развития мы рассматривали как диплоидные, так как они делятся митозом. Начиная с момента имплантации первичные гигантские клетки трофобласта сильно увеличиваются в размерах, и к 12-м сут их ядра достигают объема, соответствующего теоретическому с содержанием ДНК 128—256с; на 13—14-е сут первичные гигантские клетки трофобласта дегенерируют. При анализе полученных данных обращает на себя внимание тот факт, что уже к 7-м сут ядра достигают объема, соответствующего степени ploидности 32с, и такой объем ядер сохраняется в течение 3 сут (до 9-х сут). Затем объем ядер снова увеличивается и к 12-м сут достигает максимума, при этом увеличение размеров ядер происходит не постепенно, а наблюдается их ритмический рост.

Полиплоидизация ядер вторичных гигантских клеток происходит несколько позднее, чем первичных. Объем ядер вторичных гигантских клеток трофобласта на 6-е сут равняется 249 усл. ед. (табл. 3) и удваивается к 9-м сут. На стадии 12—13-х сут развития зародыша объем ядер резко увеличивается, максимальный размер наблюдается на 18-е сут — 512с (Зыбина, Тихомирова, 1963).

При анализе данных кариометрии обращает на себя внимание то обстоятельство,

Таблица 3

Изменение объема ядер первичных и вторичных гигантских клеток трофобласта в процессе развития зародыша крысы

Стадия развития зародыша, сут	Средний объем ядра, мкм ³	Плоидность, с
Первичные гигантские клетки		
5	257 (250)	2
6	558 (500)	4
7	3918 (4000)	32
8	4871 (4000)	32
9	4252 (4000)	32
10	10 581 (8000)	64
11	11 325 (16 000)	128
12	24 561 (32 000)	256
Вторичные гигантские клетки		
6	249 (250)	2
9	559 (500)	4
11	4869 (4000)	32
12	14 599 (16 000)	128
13	13 590 (16 000)	128
14	34 870 (32 000)	256
15	34 686 (32 000)	256
18	50 883 (64 000)	512
Фрагменты		
18	208 (250)	2

Примечание. В скобках — теоретический объем ядра, соответствующий данному уровню плоидности.

ство, что скорость полиплоидизации как в первичных, так и вторичных клетках изменяется примерно одинаково. Ядра в первичных гигантских клетках достигают за 1 сут (с 6-х по 7-е сут) уровня полиплоидии от 4с до 32с, т. е. проходят три цикла репликации хромосом; в последующие 2 сут степень полиплоидии, по-видимому, возрастает незначительно, а затем продолжает прогрессивно увеличиваться, но с меньшей скоростью (по одному циклу репликации хромосом в 1 сут) и доходит в терминальный период до 128с. В ядрах вторичных гигантских клеток степень полиплоидии увеличивается наиболее быстро — от 4с до 64с и выше за 3 сут (9—12-е), т. е. за это время в ядрах проходит пять циклов репликации хромосом (табл. 3), после чего скорость прохождения цикла репликации замедляется (Зыбина, Тихомирова, 1963).

Таким образом, проведенное измерение объемов ядер позволяет косвенно судить о степени плоидности двух популяций гигантских клеток на разных стадиях развития зародыша. Так, оказалось, что первичные гигантские клетки трофобласта могут достигать степени плоидности 256с, максимальная же плоидность вторичных гигантских клеток составляет 512с.

Цитоспектрофотометрическое и цитофлуорометрическое определение степени плоидности гигантских клеток трофобласта ряда грызунов

Изучение степени плоидности ядер методом цитоспектрофотометрии во вторичных гигантских клетках трофобласта в плаценте крысы на 11—18-е сут ее развития показало, что степень полиплоидии колеблется от 8с до 1024с. В ходе развития плаценты уровень полиплоидии клеток трофобласта увеличивается (рис. 12) (Зыбина, 1963а; Зыбина, Мосьян, 1967). Если на 11-е сут основная масса ядер (79 %) имеет степень плоидности 16с и 32с (рис. 12, а), а клетки со степенью плоидности ядер 128с только появляются в данной клеточной популяции, то через 3 сут преобладающее количество ядер (68 %) имеет степень плоидности 128—256с (рис. 12, б). В последующие сутки развития плаценты (15—18-е) в результате прогрессивно протекающей полиплоидизации подавляющее большинство ядер переходит в более высокие классы плоидности, до 256—512с (рис. 12, в—д). Небольшая часть ядер на 18-е сут достигает

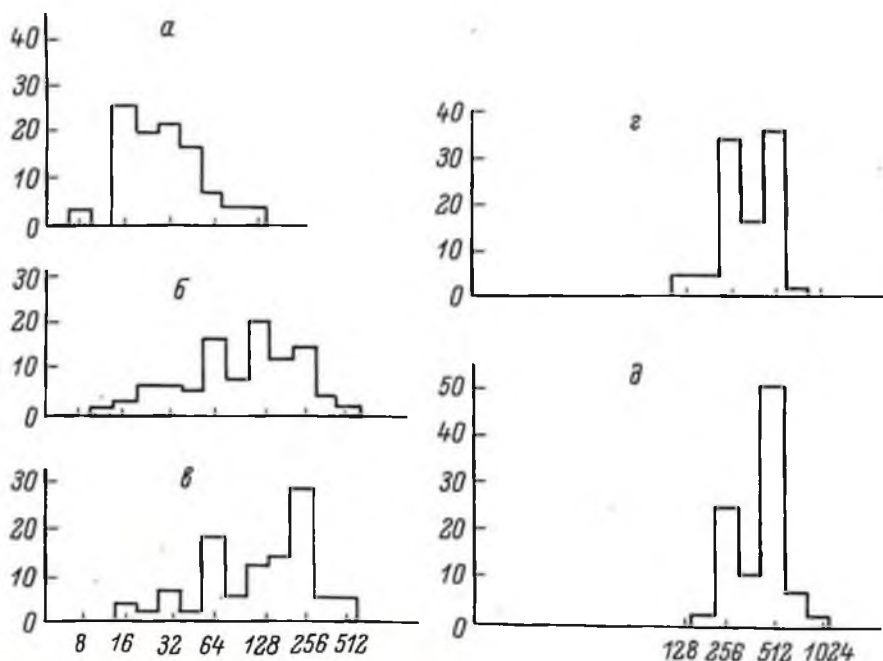


Рис. 12. Гистограммы распределения ядер по содержанию ДНК во вторичных гигантских клетках трофобласта в ходе развития плаценты крысы; степень полиплоидии ядер клеток трофобласта возрастает до 256—512с.

Сутки развития: а — 11-е, б — 13-е, в — 14-е, г — 15-е, д — 18-е. По оси абсцисс — содержание ДНК, с (шкала логарифмическая); по оси ординат — число ядер.

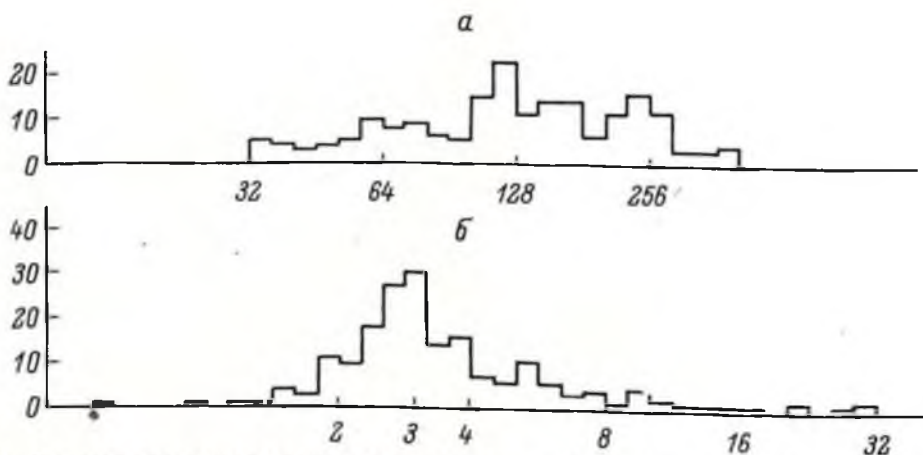


Рис. 13. Гистограммы распределения ядер гигантских клеток трофобласта кролика (а) и фрагментов этих ядер (б) по содержанию ДНК (метод абсорбционной цитофотометрии).

Обозначение осей то же, что на рис. 12.

степени плоидности 1024с. Таким образом, данные, полученные методом цитоспектрофотометрии, подтверждают результаты определения степени плоидности клеток трофобласта методом волюмометрии ядер.

Определение степени полиплоидии гигантских клеток трофобласта кролика проводилось на 15-е сут развития зародыша, когда клетки достигали значительной величины, но полиплоидизация их, по-видимому, еще полностью не завершилась. Здесь речь пойдет о ядрах клеток трофобласта обплацентарного (антимезометрального) отдела плаценты, которые, в отличие от клеток собственно плаценты, достигают гигантских размеров (Жемкова, 1956).

Для определения уровней плоидности в этом случае использовались методы абсорбционной цитоспектрофотометрии и цитофлуорометрии. Эти методы были **взяты для** сравнения результатов и оценки их эффективности (Зыбина и др., 1973, 1975а). Исследования количества ДНК в ядрах клеток трофобласта,

Таблица 4

Определение классов плоидности ядер гигантских клеток трофобласта кролика при измерении содержания ДНК с помощью методов абсорбционной цитоспектрофотометрии и цитофлуорометрии

Теоретически ожидаемое значение плоидности, с	Средняя плоидность для данного класса, с	
	цитоспектрофотометрия	цитофлуорометрия
32	36.7 (1.8)	—
64	65.8 (2.0)	61.6 (2.0)
128	131.3 (1.87)	123.4 (2.02)
256	224.0	256.0 (2.01)
512	—	501.5

Примечание. В скобках — отношение средних значений для соседних классов плоидности.

проведенные двумя методами, дали сходные результаты. Оказалось, что на 15-е сут развития зародыша популяция гигантских клеток трофобласта представлена высокополиплоидными клетками. Выделено пять классов ядер, по содержанию ДНК соответствующих 32с, 64с, 128с, 256с и 512с. Основная масса клеток имеет степень плоидности 128с и 256с, что выражается в наличии двух отчетливых пиков на гистограмме (рис. 13, а).

При анализе данных, представленных в табл. 4, обращает на себя внимание тот факт, что отношение, близкое к двум, повторяется шесть раз, что служит хорошим доказательством того, что при каждом акте репликации происходит полное удвоение всех хромосом набора.

В клетках трофобласта серой полевки на 9-е и 10-е сут развития содержание ДНК измерялось в смешанной популяции первичных и вторичных гигантских клеток (рис. 14). На 9-е сут развития зародыша у 80 % ядер количество ДНК соответствует 16—128с (рис. 14, а), тогда как у 10-суточных зародышей ДНК соответствует 64—256с; возрастает и число ядер со степенно плоидности 512с (от 0.5 до 5 %). Это свидетельствует о прогрессивно протекающей полиплоидизации двух изученных популяций клеток. Однако при сопоставлении количественных данных с морфологическими (размеры первичных и вторичных гигантских клеток на этих стадиях развития зародыша сильно различаются) можно предположить, что высокополиплоидными являются преимущественно более крупные первичные клетки трофобласта, тогда как вторичные имеют более низкую степень плоидности. Как показали наши наблюдения, полиплоидизация ядер во вторичных гигантских клетках трофобласта продолжается в ходе развития плаценты серой полевки и во вторую половину беременности. В плаценте на 14-е и 15-е сут развития обнаружено восемь классов ядер (рис. 14, б), по содержанию ДНК соответствующих 4—512с, а на 19-е сут — девять классов ядер — 8—2048с.

Анализируя полученные данные, можно заключить, что скорость полиплоидизации гигантских клеток трофобласта серой полевки выше в первую половину беременности, чем во вторую. Об этом можно судить, сопоставляя кривые распределения клеток трофобласта по количеству ДНК в их ядрах в разные сутки развития плаценты (рис. 14, а, б). Таким образом, установление высокополиплоидной природы клеток трофобласта впервые послужило доказательством того, что эти клетки уже на ранних стадиях развития существенно отличаются от клеток эмбриона, которые делятся митозом. По мнению Барлоу и Шермана (Barlow, Sherman, 1972), найденное нами новое свойство клеток трофобласта может служить маркером начала и протекания дифференцировки. С целью изучения способностей различных клеточных слоев зародыша к дифференцировке в определенном направлении Гарднер (Gardner, 1972) разделял бластоцисту на презумптивный трофобласт и внутреннюю клеточную массу; помещая их в различные органы, автор пришел к выводу о значительных различиях в способностях к дифференцировке у клеток презумптивного трофобласта и зародыша. По мнению Барлоу и Шермана (Barlow, Sherman,

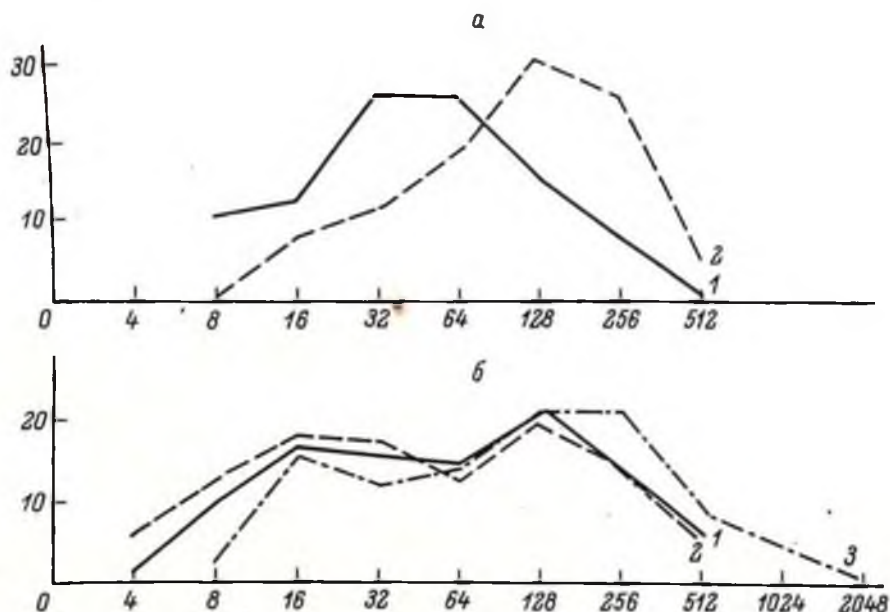


Рис. 14. Распределение ядер гигантских клеток трофобласта по содержанию ДНК в разные сроки развития плаценты серой полевки (по: Зыбина и др., 1975а).

а — первая половина беременности: 1 — 9-е сут, 2 — 10-е сут; б — вторая половина беременности: 1 — 14-е сут, 2 — 15-е сут, 3 — 18-е сут. По оси абсцисс — степень полиплоидии, с; по оси ординат — количество клеток данной плоидности, %.

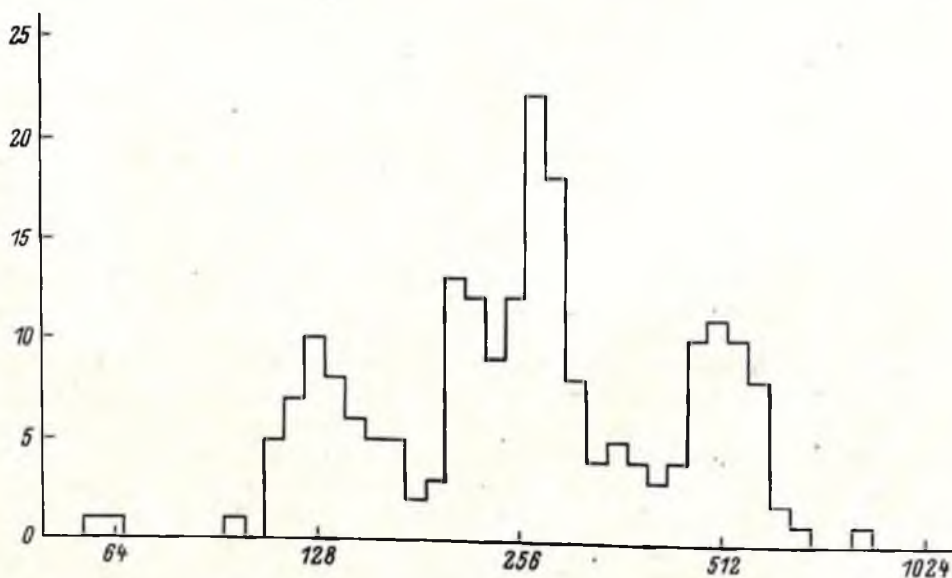


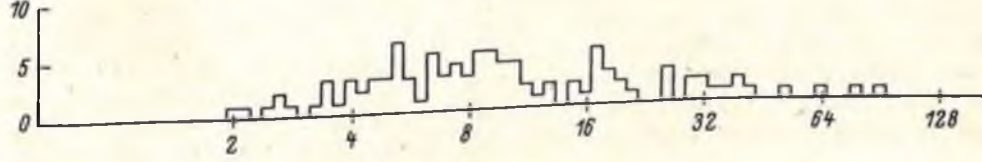
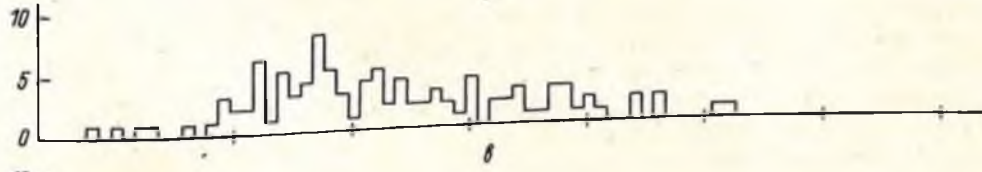
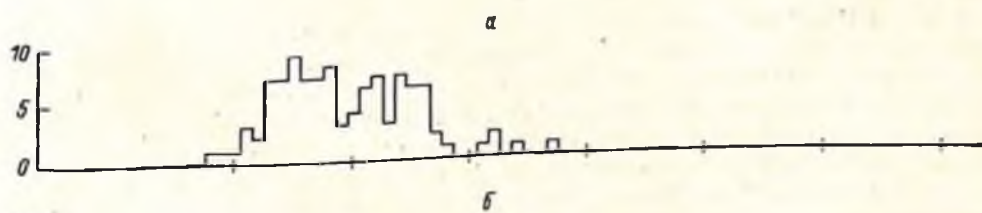
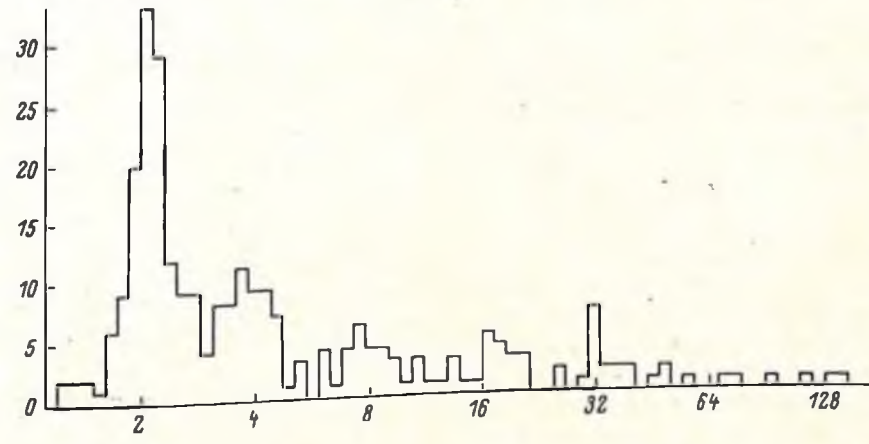
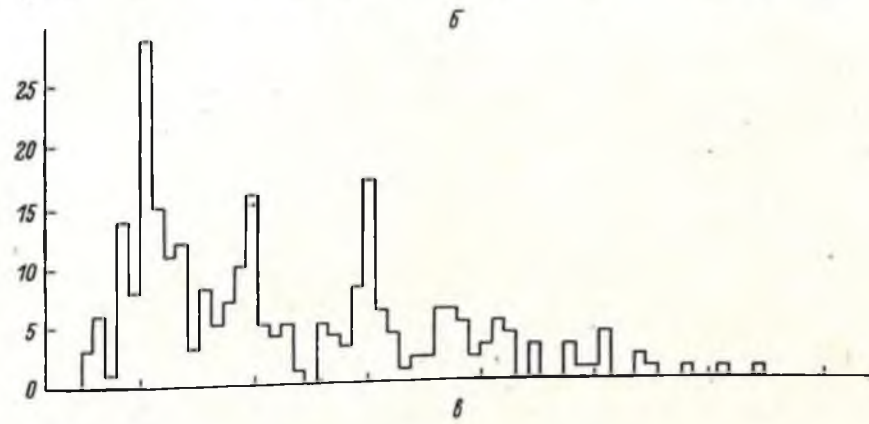
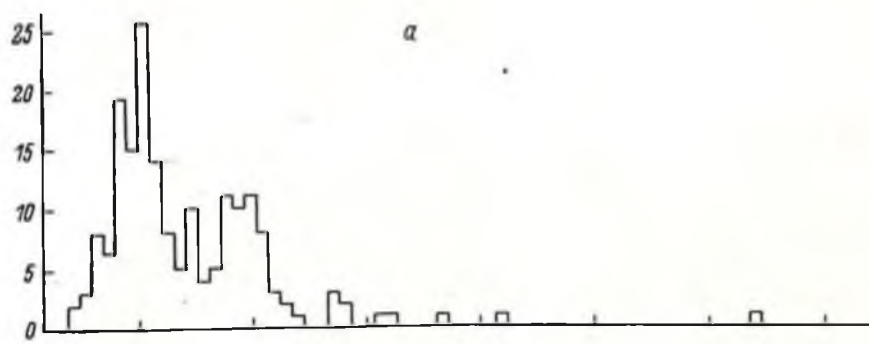
Рис. 15. Содержание ДНК в ядрах гигантских клеток трофобласта мыши на 11-е сут развития зародыша (по: Barlow, Sherman, 1972).

Обозначение осей то же, что на рис. 12.

Рис. 16. Динамика полиплоидизации клеток трофобласта мыши (по: Barlow, Sherman, 1972). Сутки развития: а — 7-е, б — 8-е, в — 9-е. Наблюдается интенсивная полиплоидизация, за короткое время приводящая к достижению высоких уровней плоидности. Обозначение осей то же, что на рис. 12.

Рис. 17. Динамика полиплоидизации клеток трофобласта мыши в ходе культивирования зародыша, выделенного из яйцевода на стадии двух бластомеров и помещенного в культуральную среду (по: Barlow, Sherman, 1972).

Сутки развития: а — 2-е, б — 4-е, в — 6-е. Уровень плоидности не достигает столь большой величины, как при нормальной имплантации (в среднем 8—32с). Обозначение осей то же, что на рис. 12.



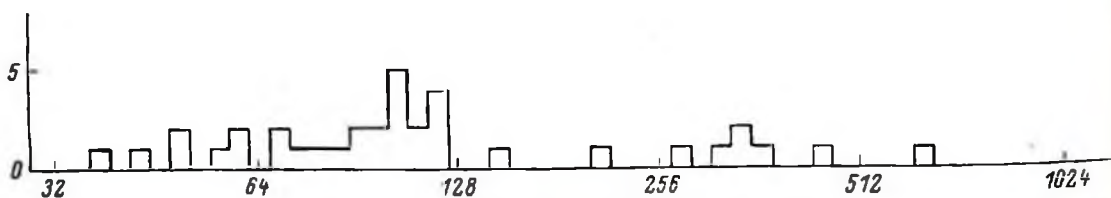


Рис. 18. Распределение по содержанию ДНК гигантских клеток трофобласта мыши после 10 сут культивирования бластоцисты, трансплантированной под капсулу почки (по: Barlow, Sherman, 1972).

Обозначение осей то же, что на рис. 12.

1972), для более точной оценки этих способностей может служить проявление таких свойств, как наличие тех или иных ферментов в трофобласте или же полиплоидизация клеток. Эти авторы провели цитоспектрофотометрическое определение количества ДНК в ядрах клеток трофобласта мыши в период с 5-х по 11-е сут беременности. За это время происходит прогрессивная полиплоидизация клеток трофобласта, так что к 11-м сут развития большинство клеток имеет степень плоидности 128—512с (рис. 15). Динамика полиплоидизации клеток трофобласта в начальный период их дифференцировки представлена на рис. 16. На 7-е сут клетки в основном имеют степень плоидности 2—4с, небольшое количество их достигает 8с, встречаются единичные ядра 16с (рис. 16, а). На 8-е сут некоторые клетки уже достигают уровня 32с и даже 64с, тогда как основная масса ядер находится в пределах от 2с до 16с (рис. 16, б). К 9-м сут преобладающий уровень плоидности ядер повышается ненамного, доходя до 16—32с, единичные ядра достигают 128с (рис. 16, в). Если проследить, как меняется наивысший уровень плоидности в гигантских клетках трофобласта по мере развития зародыша, то за каждые сутки развития этот уровень увеличивается примерно вдвое.

6-е	32—64с	9-е	128—256с
7-е	64—128с	10-е	256—512с
8-е	64—128с	11-е	512—850с

Для того чтобы ответить на вопрос, когда впервые появляются полиплоидные клетки в трофобласте мыши и не влияют ли на их появление окружающие материнские ткани, Барлоу и Шерман вымывали из рога матки бластоцисту мыши на 4-е сут развития и помещали ее в культуру. Через каждые сутки после начала культивирования проводили цитоспектрофотометрическое определение содержания ДНК в ядрах бластоцисты. Оказалось, что и в этих условиях происходит полиплоидизация клеток трофобласта, однако преобладающий уровень ее после 5—6-х сут культивирования составляет от 4с до 16с, никогда не достигая столь высоких уровней плоидности, какие наблюдаются при нормальном развитии (рис. 17). Очевидно, контакт клеток трофобласта с материнскими тканями играет некоторую роль в детерминации высоких уровней полиплоидизации, но сам по себе он не вызывает появления полиплоидных клеток. В пользу определенного влияния со стороны окружающих тканей свидетельствуют опыты, проведенные в той же работе, по трансплантации 4-суточной бластоцисты под капсулу почки небеременной взрослой самки мыши. Через 10 сут после трансплантации ядра клеток трофобласта фотометрировали. Оказалось, что в этом случае ядра имеют очень высокую степень плоидности (рис. 18) — от 64с до 512с и даже выше (Barlow, Sherman, 1972).

Эти данные согласуются с результатами работы Хант и Авери (Hunt, Avery, 1971) о том, что ядра клеток трофобласта, трансплантированных под капсулу почки, достигают очень высоких уровней плоидности. Эти результаты еще раз подтверждают, что для проявления способности к полиплоидизации клеток трофобласта не обязателен контакт с клетками эндометрия (децидуальными клетками), хотя присутствие окружающих тканей каким-то образом влияет на уровень плоидности. Авторы сделали вывод, что полиплоидия клеток трофобласта в какой-то степени внутренне присуща программе эмбриогенеза мыши.

на продолжительность цикла ядра

Определение степени плоидности ядер в гигантских клетках трофобласта крысы на разных стадиях развития зародыша представляет интерес в связи с тем, что оно дает возможность судить о темпах полиплоидизации различных популяций клеток трофобласта.

На рис. 19 представлены результаты цитоспектрофотометрического определения содержания ДНК в ядрах клеток трофобласта у мыши (Barlow, Sherman, 1972) и данные волномерии первичных гигантских клеток трофобласта крысы (Зыбина, Тихомирова, 1963). Кривая средних значений объемов ядер клеток трофобласта сходна с кривой максимальных значений содержания ДНК в трофобласте мыши на тех же стадиях эмбрионального развития — с 4-х по 12-е сут. Как результаты, полученные нами путем измерения объемов ядер в популяции первичных гигантских клеток трофобласта крысы в период имплантации (Зыбина, Тихомирова, 1963), так и данные исследования, проведенного на зародышах мыши примерно на тех же стадиях развития методом цитоспектрофотометрии (Barlow, Sherman, 1972), показали, что после имплантации blastocисты ядра гигантских клеток трофобласта претерпевают три цикла эндоредупликации, после чего (на 7—8-е сут) происходит некоторое замедление темпа полиплоидизации с последующим довольно равномерным увеличением степени плоидности (приблизительно по одному циклу эндоредупликации ДНК в сутки). Скорость полиплоидизации, согласно приведенным данным, наиболее высока в период имплантации blastocисты, когда ярче всего проявляются инвазивные свойства и фагоцитарная активность первичных гигантских клеток трофобласта.

[illegible]

• Более детальные определения скорости протекания цикла эндоредупликации ядер гигантских клеток трофобласта и продолжительности отдельных фаз клеточного цикла были проведены Л. Ф. Андреевой (1964) на трофобласте крысы и А. А. Заварзиным (1967) на трофобласте мыши. Авторадиографическое исследование Андреевой на клетках трофобласта соединительной зоны плаценты на 14-е и 15-е сут развития показало, что длительность фазы S практически постоянна и составляет 5.5 ч в разных по степени плоидности группах клеток. В высокополиплоидных вторичных гигантских клетках трофобласта этих же стадий развития плаценты фаза S занимает 6—7 ч, т. е. почти столько же времени, как и в большинстве диплоидных клеток, размножающихся митозом. Автор обнаружила, что во вторичных гигантских клетках трофобласта продолжительность всего цикла возрастает по мере полиплоидизации ядра за счет растяжения фаз G_1 и G_2 , поскольку время синтеза — S -фаза — практически не изменяется. Так, продолжительность фаз G_1 и G_2 увеличивается в гигантских клетках трофобласта крысы с 8.3 до 24.9 ч, т. е. в три раза за период с 12-х до 15-е сут развития.

Исследование ядер первичных гигантских клеток трофобласта на более ранних стадиях развития зародыша мыши (Заварзин, 1967) показало, что время синтеза ДНК в них составляет на 8-е сут всего лишь 4—5 ч, в то время как продолжительность всего цикла эндорепродукции равна 6—7 ч. На 10-е сут в ядрах первичных гигантских клеток имеет место примерно двукратное увеличение как длительности S-периода (7,5 ч), так и всего цикла (13,5 ч). А. А. Заварзин приходит к заключению, что в ходе эндополиплоидизации увеличивается длительность цикла не только за счет удлинения G-периода,

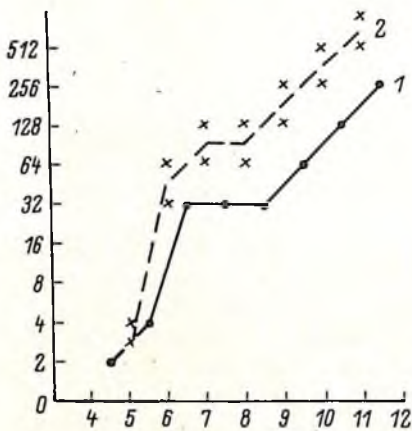


Рис. 19. Сравнение средних уровней полиплоидности в ходе полиплоидизации ядер трофобласта на последовательных стадиях развития зародышей крысы и мыши (1 — по: Зыбина, Тихомирова, 1963; 2 — по: Barlow, Sherman, 1972). 1 — трофобласт крысы, метод волюмометрии; 2 — трофобласт мыши, метод цитоспектрофотометрии. По оси абсцисс — сроки развития зародыша, сутки; по оси ординат — уровень полиплоидии ядер, с.

удлинение клеточного цикла и постепенное замедление темпа полиплоидизации. И в этом отношении имеющиеся в литературе данные цитоспектрофотометрии и автордиографии совпадают.

В последние годы было показано наличие цикла репликации хромосом и при классической политении. При исследовании динамики синтеза ДНК (при сочетании методов автордиографии и цитоспектрофотометрии) в индивидуальных клетках слюнных желез личинок хирономид были вычленены дискретные циклы редупликации ДНК в клетках с политенными хромосомами (Гундерина и др., 1984а, 1984б). При этом были найдены доказательства того, что при увеличении уровня плоидности клеток слюнных желез происходит увеличение продолжительности S-периода: при возрастании уровня плоидности от 2^{10} до 2^{11} продолжительность S-периода увеличивается на 30 %.

В литературе имеются пока единичные работы, посвященные изучению длительности клеточного цикла при эндополиплоидизации и эндоредупликации. Кроме упомянутых выше, заслуживает рассмотрения определение продолжительности клеточного цикла по кривым средних значений количества ДНК в ядрах эпидермальных клеток мясной мухи *Calliphora erythrocephala* (Pearson, 1974а). Оказалось, что в начальный период развития личинки время, необходимое для первых трех циклов редупликации ДНК, равнялось всего лишь 8 ч, так что продолжительность каждого цикла эндоредупликации составляла не более 3 ч, затем следовало небольшое замедление. Последнее становилось особенно заметным в ядрах со степенью плоидности свыше $64с$. Когда питание личинки прекращалось, эндополиплоидизация ядер эпидермальных клеток резко тормозилась. Приведенные примеры полиплоидизации клеток трофобласта и эпидермиса личинок *Calliphora* свидетельствуют в пользу предположения о том, что полиплоидия свойственна наиболее активно функционирующим клеткам и тканям, причём периоду наивысшей активности клеток (фагоцитарная деятельность, период интенсивного роста личинки и др.) сопутствует наиболее высокая скорость эндополиплоидизации. Увеличение продолжительности цикла эндоредупликации наблюдалось не только в рассмотренных двух случаях неклассической политении ядер, но также и в классических политенных ядрах клеток слюнных желез дрозофил (Rudkin, 1972).

Накопление в ядре ДНК при эндополиплоидизации в свою очередь, по-видимому, влияет на продолжительность цикла ядра (Жинкин, Нилова, 1968). В настоящее время в литературе имеется небольшое количество работ, проведенных в этом направлении. Однако результаты этих работ еще не дают оснований для того, чтобы выявить определенную зависимость между увеличением содержания ДНК в ядрах и длительностью отдельных фаз цикла.

В рассмотренных выше примерах на первичных и вторичных гигантских клетках трофобласта грызунов наблюдалось увеличение длительности клеточного цикла в ходе дифференцировки этих клеток. Во вторичных гигантских клетках трофобласта крысы увеличение цикла происходило за счет удлинения периода G (Андреева, 1964), тогда как в первичных гигантских клетках трофобласта мыши наблюдалось увеличение в два раза S-периода, наряду

с увеличением в несколько раз и *G*-периода (Заварзин, 1967). Описанные результаты сходны с данными, полученными при изучении клеток опухолей (Defendi, Manson, 1963). Временные параметры митотического цикла у опухолевых клеток, отличающихся по количеству ДНК ядра и числу хромосом, оказались одинаковыми в условиях *in vivo* и *in vitro*. Исключение составили два штамма асцитных клеток Эрлиха. У штамма ELD, имеющего 46 хромосом, *S*-период занимает 6.5—7 ч, в то время как у штамма ELT с числом хромосом 92 *S*-период составляет 13—14 ч. В последнем случае длительность *S*-периода увеличилась в два раза в соответствии с увеличением числа хромосом и количества ДНК. Титц (Titz, 1965) при сравнении *S*-периода в клетках корешков у диплоидной и тетраплоидной ржи обнаружил у тетраплоидов удлиннение периода синтеза ДНК в два раза.

По-видимому, в настоящее время еще трудно судить, почему в одних случаях происходит изменение длительности *S*-периода при полиплоидизации ядра, тогда как в других наблюдается удлинение периода цикла лишь за счет увеличения *G*-периода. Поскольку данных в этом направлении накоплено еще недостаточно, скорее можно полагать, что изменение длительности *S*-периода представляет лишь частную закономерность (Жинкин, Нилова, 1968).

Степень полиплоидии ядер клеток трофобласта соединительной зоны плаценты крысы и способы их полиплоидизации

Трофобласт соединительной зоны располагается в глубине фетальной части плаценты и ограничен от материнской части плаценты слоем вторичных гигантских клеток трофобласта. С другой стороны он граничит с лабиринтом (см. рис. 2). Как уже упоминалось выше, эта клеточная популяция долгое время сохраняет камбиальные свойства. Клетки этой зоны продолжительное время делятся митозом. За 1 сут до падения митотической активности в промежуточном отделе меняется характер митозов — они становятся полиплоидизирующими.

В период начала формирования плаценты (11-е сут) наблюдается интенсивная полиплоидизация клеток соединительной зоны плаценты (Зыбина, Грищенко, 1970). В этот период (с 11-х по 14-е сут) многие ядра становятся полиплоидными, при этом степень плоидности доходит в основном до 4—8с, реже встречаются ядра со степенью плоидности 16—32с.

Если принять во внимание, что на 13-е и 14-е сут процент митотически делящихся клеток очень высок и доходит до 10.4 %, то к 15-м сут этот процент снижается чрезвычайно резко — до 1 %, и на 16-е сут митозы в этом отделе уже полностью отсутствуют (Зыбина, 1963б; Зыбина, Грищенко, 1970; Зыбина и др., 1984в). Как показали данные автордиографии, ядра клеток трофобласта соединительной зоны плаценты способны синтезировать ДНК еще в течение 3 сут (Зыбина, 1963б; табл. X, б, е) начиная с этого периода еще в течение 3 сут (Зыбина, 1963б; Андреева, 1964). С другой стороны, согласно результатам цитофотометрических исследований, основная масса ядер продолжает полиплоидизироваться и достигает в среднем 16—32с. Следовательно, полиплоидизация ядер продолжается и после прекращения митотической активности еще в продолжение 3 сут, но уже, видимо, путем эндоредупликации. Этот процесс заканчивается к 18-м сут развития плаценты.

С целью выяснения механизма полиплоидизации было проведено дополнительное исследование клеток трофобласта соединительной зоны плаценты на 13—14-е сут развития — в период, когда в этом отделе наблюдается большое число митозов (Зыбина и др., 1984б, 1984в). На 13-е сут преобладают ядра 2с и 4с (соответственно 39 % и 46 %). Более высокие уровни плоидности (8с, 16с и 32с) встречаются значительно реже (соответственно 9, 5 и 1 %). Модальные значения всех классов выявляются довольно отчетливо, что свидетельствует о кратном умножении содержания ДНК в каждом цикле (рис. 20, а, б).

На 14-е сут развития зародыша ядра клеток соединительной зоны плаценты имеют степень плоидности от 2с до 128с (рис. 20, в, г). Наибольший процент имеют ядра (51 %) соответствует 4с. Диплоидные клетки составляют 21 %, октапло-

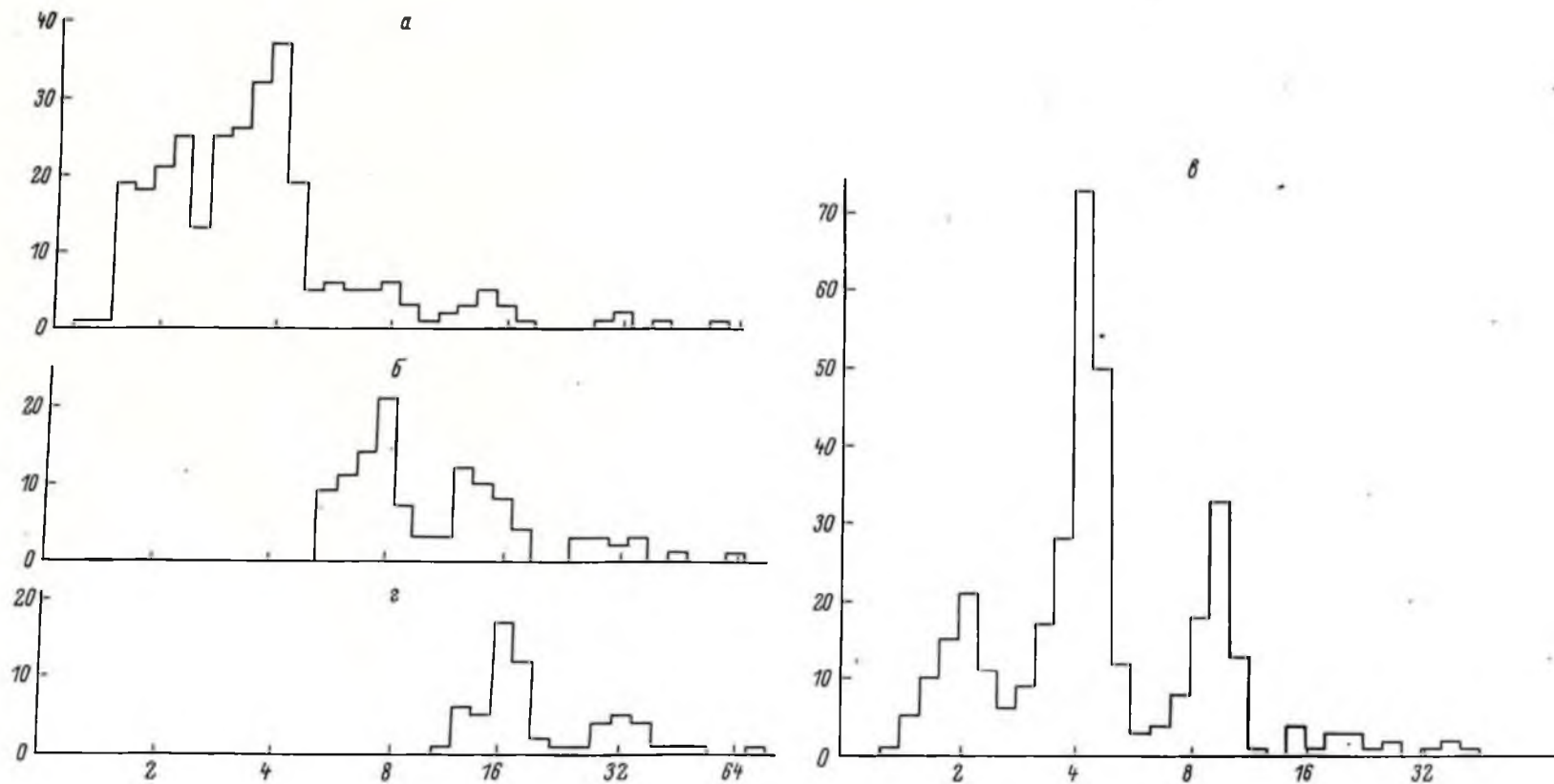


Рис. 20. Гистограммы распределения ядер клеток соединительной зоны плаценты крысы по содержанию ДНК на 13-е и 14-е сут развития зародыша. Общее соотношение ядер разной степени плоидности: а — 13-е сут, в — 14-е сут; распределение по содержанию ДНК ядер высоких уровней плоидности, взятых из той же клеточной популяции: б — 13-е сут, г — 14-е сут. Обозначение осей то же, что на рис. 12.

идные — 22 %, значительно реже встречаются клетки с большей степенью плоидности — 16с и 32с (соответственно 4 и 2 %).

Таким образом, в период с 13-х на 14-е сут основная масса клеток трофобласта соединительной зоны плаценты претерпевает полиплоидизацию: большая доля диплоидных ядер переходит в класс 4с; кроме того, на 14-е сут значительная часть ядер становится октаплоидной, чего не наблюдалось на 13-е сут. Это происходит, по-видимому, путем перехода части тетраплоидных ядер в октаплоидные.

При сопоставлении гистограмм на рис. 20, а и 20, в обращает на себя внимание следующее: если на рис. 20, в отчетливо выявляются пики, соответствующие определенным уровням плоидности, то на рис. 20, а модальные значения уровней плоидности 2с, 4с и 8с выявляются не столь отчетливо. Это может объясняться большим количеством клеток, находящихся в фазе синтеза ДНК на 13-е сут.

Бриджмен (Bridgman, 1948a, 1948b) обратила внимание на то, что при отсутствии митозов в популяции вторичных гигантских клеток трофобласта клетки соединительной зоны длительное время делятся митотическим путем. Позднее было показано наличие полиплоидизирующих митозов в этом отделе плаценты (Зыбина, Тихомирова, 1963; Зыбина, Грищенко, 1970). Полиплоидизация является следствием нарушения механизма митоза. Прежде всего обращает на себя внимание то, что после расхождения хромосом к полюсам в телофазе не происходит цитотомии (табл. IX, ж, з). Можно обнаружить клетки на стадии поздней телофазы, содержащие две группы хромосом без признаков разделения цитоплазмы. При реконструкции ядерной оболочки в интерфазе образуются двужадерные клетки (табл. IX, а). В такой популяции присутствует много двужадерных клеток, причем последние продолжают делиться митотическим путем. В ходе митоза оба ядра одновременно приходят в состояние профазы, и хромосомные наборы могут объединяться (табл. IX, б—г), так что в метафазе образуется единая метафазная пластинка, значительно большая по величине, чем при делении диплоидных клеток. В результате такого митоза, по-видимому, могут возникнуть либо две клетки с тетраплоидными ядрами, если будет иметь место цитотомия, либо образуется одна двужадерная клетка, каждое ядро которой имеет степень полиплоидии 4с. В последнем случае суммарная степень полиплоидии на клетку будет составлять 8с. Не исключена возможность вступления в полиплоидизирующий митоз клеток с тетраплоидными ядрами, что приводит в конечном счете к возникновению клеток с октаплоидными ядрами. В ходе митоза полиплоидной двужадерной клетки не всегда происходит объединение centrosom и образование единого веретена. На табл. IX, л представлена анафаза полиплоидного митоза, в котором выявляются по две анафазные пластинки на каждом полюсе. Однако такие клетки встречаются очень редко (Зыбина, Грищенко, 1970).

Определение содержания ДНК в митотических фигурах при одновременном цитоморфологическом анализе показало, что как диплоидные, так и тетраплоидные ядра в трофобласте соединительной зоны плаценты способны делиться митотическим путем: содержание ДНК в этих фигурах соответствует 4с, 8с, 16с. Морфологическое изучение митотических фигур в клетках соединительной зоны плаценты показало, что большинство их имеет нормальную конфигурацию (табл. IX, б—з), однако довольно часто встречаются и аномальные митозы (табл. IX, и—л). Это относится как к диплоидным, так и к полиплоидным митотическим фигурам, однако среди полиплоидных тенденция к необычному расположению хромосом выражена сильнее. Наиболее характерной отличительной чертой полиплоидных метафаз и анафаз является их большая компактность, а также не совсем правильное расположение хромосом в экваториальной плоскости в метафазе. Наряду с этим довольно часто встречаются анафазные фигуры с отставаниями хромосом и хромосомными мостами (табл. IX, и). Хромосомные мосты и отставания встречаются не только в диплоидных, но и в полиплоидных анафазных фигурах, причем могут наблюдаться фигуры не только с одним, но с двумя и большим числом мостов. Иногда можно видеть картины, похожие на множественное нерасхождение хромосом в анафазе, что, возможно, является результатом реституции

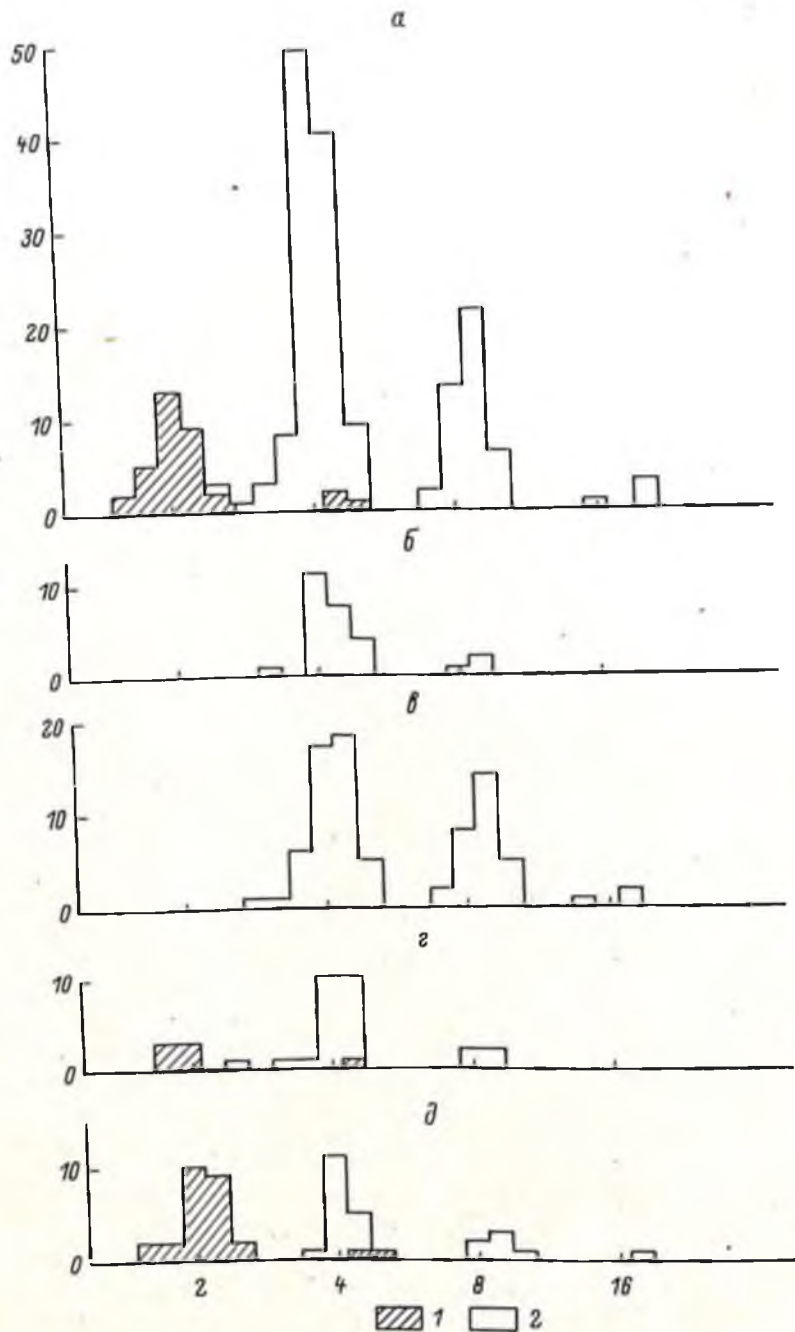


Рис. 21. Распределение митотических фигур по содержанию ДНК в популяции клеток соединительной зоны плаценты крысы на 14-е сут развития зародыша.

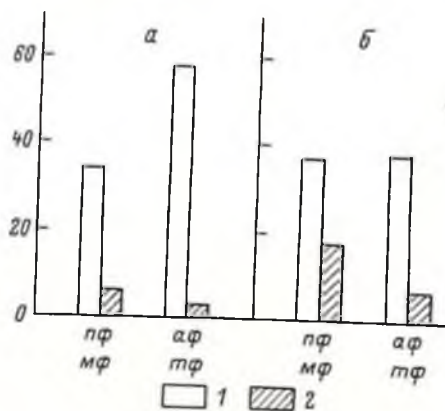
Распределение: а — всех митотических фигур, б — профазных, в — метафазных, г — анафазных, д — телофазных фигур. Результат измерений: 1 — одной из двух дочерних групп хромосом на стадии ана- и телофазы, 2 — целых митотических фигур. Обозначение осей то же, что на рис. 12.

в анафазе. Вообще многие картины аномальных митозов в этом отделе плаценты можно трактовать как проявление реституционных митозов (Зыбина и др., 1984в). Как уже говорилось, блокирование различных стадий митотического цикла — профазы, метафазы, анафазы и телофазы — приводит к реституционным циклам митоза (Tschermak-Woess, 1973; Nagl, 1978).

Цитоспектрофотометрическое определение содержания ДНК в митотических фигурах на разных фазах митоза и на разных уровнях плоидности клеток проводилось с целью выяснения вопроса, способны ли полиплоидные клетки в ходе митотического деления проходить все фазы митоза, вплоть до телофазы, т. е. полиплоидизация идет либо за счет выпадения только цитотомии, либо имеет место реституция на какой-либо из фаз митоза.

Рис. 22. Процентное соотношение диплоидных (1) и полиплоидных (2) митотических фигур, соответствующих ранним и поздним фазам митоза.

Соотношение разных типов митотических фигур: а — на 13-е сут, б — на 14-е сут. пф — профаза, мф — метафаза, аф — анафаза, тф — телофаза. По вертикали — доля митотических фигур каждого типа, %.



Интересно, что среди митотических фигур, соответствующих разным классам плоидности, могут встречаться все фазы митоза, от профазы до ана- и телофазы (Зыбина и др., 1984в). Гистограммы распределения всех митотических фигур на 14-е сут развития, представленные на рис. 21, были разделены по фазам митоза. Видно, что все митотические фигуры имеют содержание ДНК, соответствующее разным уровням плоидности. Так, например, обнаружены метафазы со степенью плоидности 4с (2n), 8с (4n), 16с (8n), реже — 32с (16n). Клетки, достигшие уровней плоидности 4n и 8n, вступают в митоз, проходят все или почти все стадии деления, так как даже среди телофаз могут встречаться фигуры, соответствующие 16с (8n) (рис. 21, д). По-видимому, в ходе полиплоидизирующих митозов в соединительной зоне плаценты в большинстве случаев митоз может протекать нормально в клетках со степенью плоидности вплоть до 8n, а возможно, и больше. Однако не исключена возможность блокирования поздних фаз митоза (ана- и телофаза) при отсутствии блокирования ранних фаз, в пользу чего свидетельствует относительно высокая встречаемость метафаз и профаз по сравнению с ана- и телофазами.

Для того чтобы попытаться ответить на вопрос о том, имеет ли место реституционный митоз в части полиплоидизирующихся клеток, все измеренные митотические фигуры были разделены на две группы. В первую включили все профазы и метафазы, т. е. ранние стадии митоза, во вторую — ана- и телофазы, т. е. поздние стадии. При этом исходили из предположения, что, в соответствии с данными морфологических наблюдений, блокирование митоза может происходить на стадии мета- и анафазы, и в этом случае следовало ожидать уменьшения числа поздних фаз митоза. Все митозы были подразделены также на диплоидные и полиплоидные, согласно данным цитоспектрофотометрии. Было определено соотношение всех перечисленных групп по отношению к общему количеству проанализированных митозов на данной стадии развития. Эти соотношения на 13-е и 14-е сут развития представлены на рис. 22. Обращает на себя внимание, что на 14-е сут доля полиплоидных митозов заметно увеличивается по сравнению с 13-ми сут. В то же время видно, что соотношение диплоидных и полиплоидных митозов резко различается на ранних и поздних фазах митоза: если в диплоидных клетках преобладают поздние фазы, либо количество ранних и поздних фаз митоза примерно равно, то в полиплоидных клетках доля поздних фаз митоза на обеих стадиях развития приблизительно в два раза ниже доли ранних фаз. Такие факты можно трактовать как результат замедления скорости протекания тех или иных фаз митоза в ходе полиплоидизации, но наблюдаемые нами картины анафазной реституции дают основание полагать, что уменьшение доли поздних фаз может быть связано с блокированием митоза на стадиях ана- и телофазы.

Полиплоидизация ядер третичных гигантских клеток трофобласта крысы

Как уже говорилось выше, третичные гигантские клетки трофобласта впервые появляются на 10-е сут развития зародыша крысы (Зыбина, Грищенко, 1970). Отдельные клетки высвобождаются из синцитиальной сети эктоплацентарного конуса и мигрируют в глубь decidua basalis по кровеносным сосудам

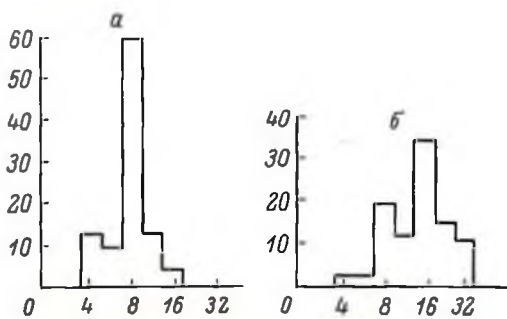


Рис. 23. Гистограммы распределения ядер по содержанию ДНК в третичных гигантских клетках трофобласта.

Сутки развития: а — 11-е, б — 14-е. Обозначение осей то же, что и на рис. 12.

(табл. III). Возникает вопрос: как же происходит пополнение этой клеточной популяции? В ходе наших исследований оказалось, что митозы в мигрирующих клетках трофобласта никогда не встречаются. Третичные гигантские клетки трофобласта, как и вторичные, с начала своего обособления теряют способность делиться митозом и переходят на цикл эндорепродукции. Предварительные автордиографические данные показали, что в ходе миграции клетки быстро утрачивают способность к эндорепродукции хромосом. На 14-е сут развития в той части соединительной зоны плаценты, где только намечается обособление третичных гигантских клеток трофобласта, 70 % ядер синтезируют ДНК (табл. X, б); в зоне третичных клеток, начавших миграцию, только 3 % ядер включают ^3H -тимидин, тогда как в трофобласте, переместившемся на значительное расстояние, ядра клеток не включают метку. Такое резкое падение процента меченых ядер говорит о том, что эндорепродукция затухает вскоре после того, как клетки высвобождаются из соединительной зоны плаценты и перемещаются в артериальный канал, входя в состав материнской части плаценты. Для третичных гигантских клеток характерно появление определенного числа (до 35 %) двуйдерных клеток. Их образование, по-видимому, свидетельствует о прохождении ацитокинетических полиплоидизирующих митозов.

Цитоспектрофотометрическое измерение количества ДНК в ядрах третичных гигантских клеток трофобласта позволило выявить увеличение степени полиплоидии в ходе развития плаценты (Зыбина, Грищенко, 1970). В среднем содержание ДНК возрастает в два раза в период с 11-х по 14-е сут развития зародыша (рис. 23). Здесь обнаружены значительно более низкие классы полиплоидии (4—32с), чем во вторичных гигантских клетках. При сравнении результатов цитоспектрофотометрии ядер в третичных гигантских клетках со вторичными обращает на себя внимание значительное различие в уровнях полиплоидии этих двух клеточных популяций. За период развития плаценты с 11-х по 14-е сут третичные гигантские клетки претерпевают один-два цикла эндорепродукции хромосом, тогда как за это же время ядра вторичных клеток проходят четыре последовательных цикла, от 16—32с до 128—256с. Значительно меньшая степень полиплоидии третичных гигантских клеток объясняется, по-видимому, быстрым прекращением в ядрах синтеза ДНК во время дифференцировки этой клеточной популяции.

Полиплоидизация децидуальных клеток в норме и в искусственно образованной децидуоме у грызунов

При развитии децидуальной реакции последовательный ход изменений в эндометрии может быть разделен на несколько фаз, которые включают в себя сенсibilизацию эндометрия, индукцию развития децидуальных клеток и их дифференцировку (Sachs, Shelesnyak, 1955; Shelesnyak et al., 1966). Начало децидуальной реакции сопровождается активной пролиферацией соединительнотканых клеток. Пролиферация начинается локально в клетках, прилежащих к просвету рога матки, а затем, по мере возникновения децидуальных клеток, перемещается к периферии эндометрия. Смещение зоны размножающихся митозом клеток связано с постепенным прекращением синтеза ДНК в дифференцированных децидуальных клетках (Жинкин, Самошкина, 1967).

В зоне дифференцировки децидуальных клеток Закс и Железняк (Sachs,

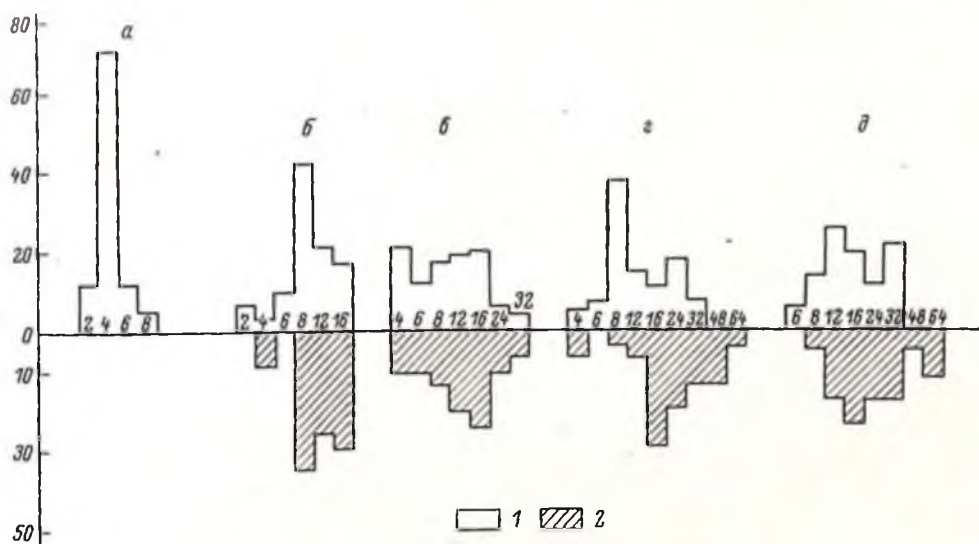


Рис. 24. Гистограммы распределения ядер клеток эндометрия и децидуальных клеток по содержанию ДНК в различные сроки беременности крысы.

Сутки развития: а — 5-е, б — 7-е, в — 8-е, г — 10-е, д — 9-е (децидуома). 1 — содержание ДНК в ядрах, 2 — содержание ДНК в клетках (гистограмма построена с учетом суммарной степени плоидности в двуядерных децидуальных клетках). По оси абсцисс — содержание ДНК, с; по оси ординат — количество клеток, %.

Shelesnyak, 1955) обнаружили наряду с нормальными митозами многополюсные и предположили, что децидуальные клетки являются полиплоидными. Сходные предположения уже давно высказывались и другими исследователями (Зыбина, 1958а, 1959; Atlas et al., 1960; Жинкин, Самошкина, 1967). Несколько позднее была определена степень плоидности децидуальных клеток и сделана попытка установить механизм их полиплоидизации (Зыбина, Грищенко, 1972).

По мере развития децидуальной реакции во время нормальной имплантации зародыша крысы в период с 5-х по 10-е сут (табл. X, а, в), а также в искусственно вызванной децидуоме наблюдается прогрессивно развивающаяся полиплоидизация. При анализе данных цитоспектрофотометрического измерения содержания ДНК выявлено шесть классов ядер: от 2с до 64с.

Если на 5-е сут содержание ДНК в ядрах колеблется от 2с до 8с, то на 10-е сут оно повышается до 32с (рис. 24). На 7-е сут, когда в слизистой оболочке матки отчетливо выражена зона децидуальных клеток, основная масса ядер имеет степень плоидности 8с. Если принять во внимание, что масса ядер имеет степень плоидности 8с, то суммарная плоидность клеток в это время появляются двуядерные клетки, то суммарная плоидность клеток несколько выше (рис. 24, б). Децидуальные клетки со степенью плоидности 32с впервые появляются на 8-е сут развития, через 1 сут число их увеличивается в два раза, если учитывать суммарную плоидность двуядерных клеток (рис. 24, в, г). При анализе данных цитоспектрофотометрии видно, что темп полиплоидизации ядер в децидуальных клетках в первые 2 сут развития (5—7-е) намного выше, чем в трое последующих, с 7-х по 10-е сут (Зыбина, Грищенко, 1972).

В рамках той же работы проведена оценка степени полиплоидии децидуальных клеток в искусственно вызванной децидуоме (на 9-е сут развития). Децидуома, как правило, представляет собой большее утолщение эндометрия, чем при нормальной имплантации зародыша; размеры децидуальных клеток при этом также несколько выше. Данные цитоспектрофотометрии показывают, что степень плоидности ядер децидуальных клеток в децидуоме на 9-е сут развития несколько превышает таковую при нормальной беременности на 10-е сут (Зыбина, Грищенко, 1972). В децидуоме преобладают двуядерные клетки, имеющие суммарную степень плоидности 16с и 32с, довольно значительная часть клеток соответствует 64с (рис. 24, д).

Результаты исследования распределения ДНК в двуядерных децидуальных клетках дают возможность говорить о значительной вероятности равного содер-

жания ДНК в обоих ядрах. Такое соотношение сохраняется в ядрах различных степеней плоидности — от 8с до 64с. Следует заметить, что большая часть ядер в двуядерных децидуальных клетках соответствует 16с. Кроме того, установлено, что двуядерные клетки способны синтезировать ДНК, причем синтез осуществляется синхронно в обоих ядрах (Зыбина, Грищенко, 1972).

Имеются также данные о полиплоидной природе крупных децидуальных клеток в слизистой оболочке матки мыши (Ansell et al., 1974). Цитоспектрофотометрически определяли уровень плоидности ядер в одноядерных и двуядерных клетках в искусственно вызванных децидуомах на 9-е сут развития. В этом случае децидуальные клетки также оказывались полиплоидными. Наибольшее количество ядер (86 %) имело в среднем уровень плоидности 2—8с, и только 10 % ядер соответствовало 16с, а 2 % — 32с. При выборочном измерении содержания ДНК в наиболее крупных ядрах были обнаружены единичные ядра со степенью плоидности 64с.

Относительно механизма полиплоидизации децидуальных клеток пока еще трудно сказать что-либо определенное. Поскольку в зоне образования децидуальных клеток встречаются полиплоидные митозы, то возможно, что полиплоидные клетки возникают путем незавершенных полиплоидизирующих митозов (см. табл. I, д). Вероятно, полиплоидные клетки возникают вследствие ацитокINETических митозов, которые, чередуясь с нормальными митозами, приводят к умножению числа хромосом в клетке. В пользу этой точки зрения свидетельствует наличие большого числа двуядерных клеток, которые могут являться промежуточным звеном при полиплоидизации по типу ацитокINETического митоза (Бродский, Урываева, 1981). Наличие в децидуальных клетках крысы многополюсных митозов и одновременное присутствие в этой зоне очень крупных ядер сложного, лопастного строения наводят на мысль о возможности их происхождения путем реституции в мета- или анафазе.

Поскольку децидуальные клетки возникают путем дифференцировки из соединительнотканых клеток эндометрия, долгое время существовало предположение о происхождении полиплоидных децидуальных клеток путем слияния клеток друг с другом. Только после исследований с применением изотопного анализа эта возможность была полностью исключена (Ansell et al., 1974). Для того чтобы показать, что децидуальные клетки не сливаются друг с другом, готовили химерные зародыши из бластомеров различных линий мышей, каждая из которых представляла электрофоретический вариант энзима глюкозофосфатизомеразы (GPI-1A/GPI-1B). Наличие гетеродимерных молекул говорило бы о возможности слияния клеток, но таких молекул не было обнаружено. Значит, клеточное слияние не является способом образования многоядерных или гигантских децидуальных клеток у мыши.

Таким образом, многие данные указывают на то, что вероятными способами полиплоидизации децидуальных клеток могут быть незавершенные митозы; дают основание для того, чтобы предполагать одновременное наличие в этой популяции и другого механизма — эндоредупликации.

Полиплоидизация клеток метриальной железы

Несмотря на дифференцировку и высокую специализацию клеток метриальной железы, они не теряют своей способности делиться митозом. Митозы в этих клетках довольно часто встречаются как в эндометрии, так и в миометрии. Во время митоза эозинофильные включения в клетке сохраняются (рис. 25). При этом структура цитоплазмы заметно изменяется. Гранулы рассеиваются по всей цитоплазме, последняя становится более однородной, прозрачная зона эктоплазмы исчезает. Среди митотических фигур могут встречаться метафазные или анафазные фигуры неправильной формы, хромосомы в метафазе часто лежат более компактно — возможно, клейкость хромосом повышается (Зыбина, 19586).

Поскольку клетки метриальной железы имеют крупные размеры и при этом большинство дифференцированных клеток имеют два ядра, нас заинтересовал вопрос, не являются ли они полиплоидными.

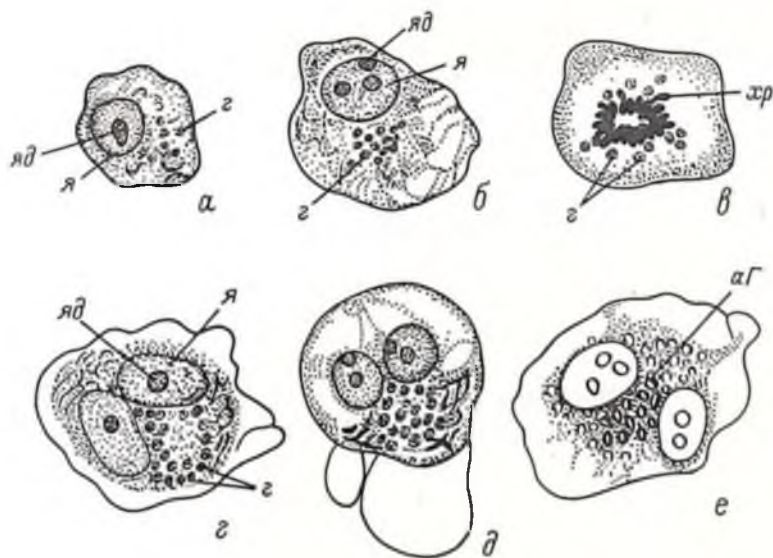


Рис. 25. Клетки метриальной железы в эндометрии рога матки беременной крысы.

а—б и г—д — постепенное накопление эозинофильной зернистости в цитоплазме по время роста и дифференцировки клеток; е — сохранение эозинофильных гранул в митозе; аГ — расположение аппарата Гольджи совпадает с локализацией гранул. я — ядро, яд — ядрышко, хр — хромосомы, г — гранулы, аГ — аппарат Гольджи.

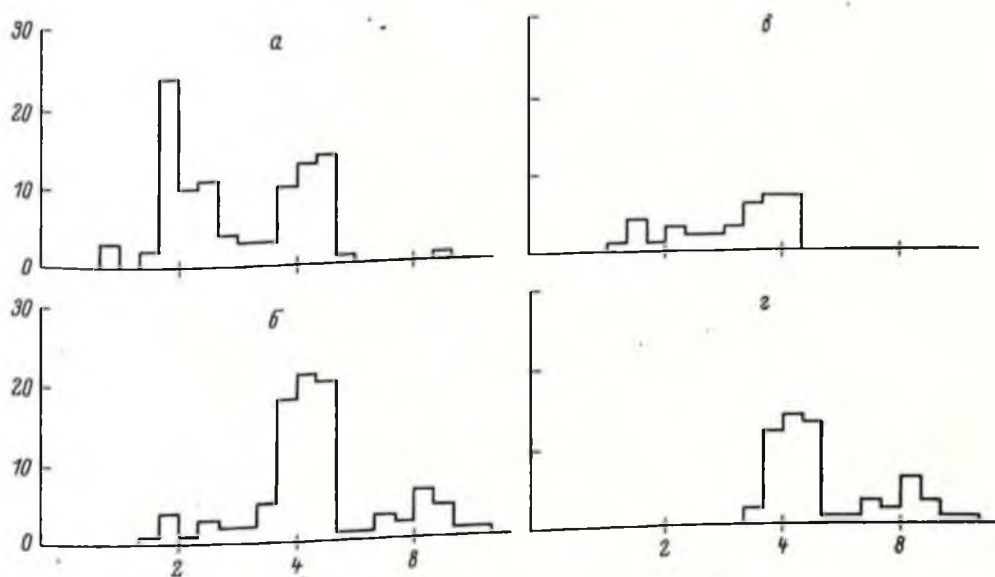


Рис. 26. Гистограмма распределения содержания ДНК в клетках метриальной железы на 11-е сутки развития.

Распределение содержания ДНК: а — в отдельных ядрах, б — суммарного в одноядерных и в двухядерных клетках; отдельно: в — в одноядерных, г — в двухядерных клетках. По оси абсцисс — содержание ДНК, с, по оси ординат — число ядер или клеток.

Результаты измерения содержания ДНК в клетках метриальной железы крысы на 11-е сут развития зародыша (рис. 26) представлены ниже.

2c	10.9%
2c×2	50.9%
4c	20.9%
4c×2	15.5 %
8c	1.8 %
Всего полиплоидных клеток	89.1%

Видно, что около 90 % всех клеток метриальной железы на 11-е сут развития являются полиплоидными. Обнаружено всего пять разных типов клеток: однадерные клетки с диплоидными ядрами (2c), двуядерные клетки с диплоидными ядрами (2c×2), однадерные клетки с тетраплоидными ядрами (4c), двуядерные с тетраплоидными ядрами (4c×2) и однадерные клетки с октаплоидными ядрами (8c). При этом наиболее многочисленными являются клетки 2c×2 (50.9 %), значительный процент составляют и однадерные тетраплоидные клетки (20.9 %). Таким образом, подавляющее большинство клеток метриальной железы на 11-е сут развития тетраплоидные (рис. 26), при этом лишь около 40 % клеток имеют полиплоидные ядра, т. е. полиплоидизация осуществляется здесь в основном за счет того, что значительная часть клеток является двуядерными. Тем не менее в изучаемый период процессы полиплоидизации не завершаются образованием двуядерных клеток с диплоидными ядрами; последние, по-видимому, в результате объединения метафазных пластинок могут давать начало однадерным полиплоидным клеткам, которые в свою очередь в ходе незавершенного митоза способны превращаться в двуядерные полиплоидные. В пользу этого предположения свидетельствуют данные о наличии однадерных и двуядерных клеток с тетраплоидными и даже октаплоидными ядрами (рис. 26, в, г), причем доля полиплоидных ядер довольно высока. Большинство ядер в однадерных клетках тетраплоидные, следовательно, вряд ли все эти клетки имеют удвоенное количество ДНК в результате нахождения на стадии G₂; присутствие единичных октаплоидных ядер также свидетельствует о том, что в данном случае речь идет именно о полиплоидизации ядер.

В литературе имеются пока еще лишь единичные работы, в которых обсуждаются возможные механизмы полиплоидизации клеток метриальной железы. В частности, основываясь на морфологических и автордиографических наблюдениях, Ларкин и Шульц (Larkin, Schultz, 1968) предполагают, что появление двуядерных клеток метриальной железы происходит путем митотического деления без цитокинеза; оба ядра синхронно проходят все фазы клеточного цикла и вступают в митоз. Следовательно, по мнению авторов, в ходе митоза метафазные пластинки могут объединяться, как это наблюдалось в печени крыс (Beams, King, 1942; Wilson, Leduc, 1948). В настоящее время такой тип полиплоидизации известен под названием ацитокинетического митоза с последующим полиплоидизирующим митозом (Бродский, Урываева, 1977, 1981).

В пользу этого предположения свидетельствует наличие наряду с обычными по размерам более крупных метафазных пластинок в клетках, имеющих специфические для метриальной железы гранулы (Larkin, Schultz, 1968). Наличие двуядерных клеток с диплоидными и тетраплоидными ядрами, а также одновременное присутствие значительного процента однадерных клеток с полиплоидными ядрами также указывают на возможность именно такого механизма полиплоидизации. Однако изучение динамики соотношения разных типов клеток метриальной железы в ходе их полиплоидизации в дальнейшем, вероятно, поможет выяснить правомерность этого предположения.

Сравнительно невысокие средний и максимальный уровни плоидности клеток метриальной железы свидетельствуют о сходстве путей их полиплоидизации с децидуальными клетками и клетками соединительной зоны плаценты (Зыбина, Тихомирова, 1963; Зыбина, 1981в).

Поскольку формирование клеток метриальной железы может, вероятно, рассматриваться как одна из форм децидуальной реакции, то сходство путей

и уровней полиплоидизации децидуальных клеток и клеток метриальной железы является дополнительным указанием на однотипный характер условий их дифференцировки и сходство выполняемых функций.

Обобщая все имеющиеся данные по определению степени полиплоидии, полученные методами измерения объемов ядер, цитоспектрофотометрии и цитофлуорометрии, следует подчеркнуть, что клетки трофобласта у всех изученных видов грызунов имеют чрезвычайно высокую степень полиплоидии, при этом степень полиплоидии клеток трофобласта в разных клеточных популяциях значительно различается. Так, в первичных и вторичных гигантских клетках степень полиплоидии ядер может достигать до 512—2048с, в то время как в ядрах клеток трофобласта соединительной зоны плаценты она достигает лишь 16—32с. Уровень плоидности ядер децидуальных клеток достигает до 16—32с. Степень полиплоидности ядер, по всей видимости, зависит от механизмов полиплоидизации.

Для того чтобы разобраться, каковы механизмы образования высокополиплоидных клеток, необходимо детальное рассмотрение структурных преобразований хромосом в ходе дифференцировки клеток.

МОРФОЛОГИЯ ПОЛИТЕННЫХ ХРОМОСОМ
В ТРОФОБЛАСТЕ ГРЫЗУНОВ

Светооптическое изучение политенных хромосом

Политенные хромосомы в трофобласте крысы. В первый период исследования особенностей дифференцировки гигантских клеток трофобласта особое внимание обращалось нами на изменения в структуре ядра. В начале полиплоидизации первичных гигантских клеток выявляются два типа ядер. Чаше встречаются структурированные ядра с розетками из крупных хромоцентров (или мелких хромосом), расположенных главным образом под ядерной оболочкой и на поверхности ядрышка. Значительно реже обнаруживаются сетчатые, диффузно окрашивающиеся по Фельгену ядра.

Структура ядер гигантских клеток трофобласта с более высокой степенью плоидности (свыше 32с) несколько изменяется, в них начинают выявляться довольно длинные тонкие парные нити с хромомерами, к ядрышку примыкают интенсивно окрашенные хромоцентры или хромосомы (табл. XI, а, б). Конденсированные участки хромосом видны и в кариоплазме (табл. XI, б). На начальных этапах политенизации ядра в нем появляются настолько рыхлые хромосомные пучки, что границы их можно определить лишь весьма приблизительно (табл. XI, г). Однако на участках, прилегающих к ядрышку, хромосомы лежат более упорядоченно и в одних случаях образуют диски и междисковые пространства, а в других — плотные гетерохроматические районы, в которых хромомеры трудно различимы.

При сравнении толщины ядрышкообразующих хромосом в месте их вхождения в ядрышко отчетливо видно, как она возрастает по мере прогрессивной полиплоидизации ядра. Еще более наглядно увеличение толщины хромосом видно на определенном этапе дифференцировки клеток трофобласта (на 12-е и 14-е сут развития зародыша), когда в ядре все хромосомы набора образуют довольно толстые и сравнительно короткие пучки. Такие пучки располагаются преимущественно под ядерной оболочкой и около ядрышка (табл. XI, д—ж). Но и в этом случае довольно трудно идентифицировать отдельные хромосомы, поскольку их величина варьирует в пределах ядра (табл. XII, а). Строение плотного пучка хромосомы неодинаково по длине: в центральной части хромосомы располагаются более компактно, а на концах разрыхлены, и хромосома расщеплена на тонкие фибриллы, расходящиеся веерообразно (табл. XI, д; XII, в). В отдельных, более крупных хромосомах выявляются два плотно упакованных участка, окруженных радиально отходящими тонкими нитями (табл. XI, ж). Количество пучков в ядре примерно равно гаплоидному числу хромосом.

Следует остановиться на характерной для эндополиплоидных ядер особенности, встречающейся в трофобласте грызунов, — на временном характере выявления политенных хромосом в цикле репликации (Зыбина, 1961, 1963б, 1983; Зыбина, Тихомирова, 1963; Зыбина и др., 1973, 1975б). В период, предшествующий репликации ДНК, хромосомы политенной хромосомы деконденсируются, сестринские хроматиды разъединяются на значительных участках политенных хромосом и отходят друг от друга, рассеиваясь по кариоплазме. В результате ядро окрашивается довольно гомогенно и напоминает интерфазное — стадия сетчатого ядра (табл. XII, а). Соединения хроматид, как уже говорилось ранее, сохраняются только в ограниченных участках ядрышкообразующих хромосом и, по-видимому, в центромерных районах. Стадию с довольно равномерно рассеянными по ядру тонкими двойными нитями, с отчетливо видимыми парными хромомерами мы на основании данных авто-

радиографического исследования рассматриваем как фазу *S* (поскольку на этой стадии имеет место синтез ДНК), тогда как стадию с политенными хромосомами в виде пучков хромонем — соответственно как *G*-фазу.

Ядрышко в клетках трофобласта очень крупное, округлой или овальной формы (табл. XI, *a*). Оно богато РНК и содержит многочисленные вакуоли. Впоследствии ядрышко становится лопастным (табл. XI, *b*); постепенно расчлененность ядрышка возрастает, и оно разделяется на несколько ядрышек (табл. XI, *ж*; XII, *a*, *в*). Ядрышки присутствуют в течение всего цикла ядра — на стадиях *S* и *G*; на протяжении всего цикла в районе ядрышкового организатора хроматиды остаются соединенными.

Политенные хромосомы в трофобласте крысы на давленных препаратах, окрашенных ацетоорсеином, представляют собой рыхлые нитчатые структуры с единичными блоками гетерохроматина. На стадии *G* в некоторых районах хромосом видны пуффы (табл. XII, *b*). На стадии *S*, когда соединение деконденсированных хромонем ослабевает на большом протяжении политенной хромосомы и они способны отходить друг от друга на значительное расстояние, небольшие участки хромосом могут оставаться компактными. В последних иногда можно видеть отхождение от центральной оси тонких боковых петель, различных под световым микроскопом. Возможно, что это — петли хромосом типа ламповых щеток, образовавшиеся в результате деспирализации хромомер.

Степень конденсации хромосомных пучков может несколько варьировать в пределах одного ядра: часть хромосом разрыхлена, в них видны составляющие их хромонемы с хромомероподобными узелками; в других хромосомах, имеющих более четкие очертания, хромонемы плотно упакованы, лишь от боковой поверхности радиально отходят тончайшие нити. Наиболее конденсированной является одна из X-хромосом, образующая тельце Барра в ядрах клеток женских особей (табл. XI, *ж*). По величине тельца Барра почти не отличается от других хромосом набора, но оно более компактно и четко очерчено. В сетчатом ядре оно также выявляется как компактное тельце (табл. XII, *a*).

В ядрах гигантских клеток трофобласта крысы кроме крупных ядрышек встречаются небольшие округлые ядрышкоподобные тельца, имеющие диаметр 1—2 мкм. Они возникают в небольшом числе в гетерохроматических участках политенных хромосом, но не в районе ядрышкового организатора.

В конечный период дифференцировки клеток пучки не образуются, ядро имеет сетчатое строение, несколько напоминает интерфазное, но содержит многочисленные крупные гетерохроматические глыбки. В это время половой хроматин приобретает вид довольно рыхлого тельца, поэтому его трудно идентифицировать в ядре.

Политенные хромосомы в трофобласте кролика. Дифференцировка клеток антимезометрального трофобласта кролика происходит так же, как и у белой крысы: клетки трофобласта в период миграции в толщу слизистой оболочки матки утрачивают способность делиться митозом (Зыбина, 1964, 1965), начинают быстро расти, причем рост клеток сопровождается прогрессивной полиплоидизацией ядер (Зыбина и др., 1973, 1975б). В высокополиплоидных ядрах клеток трофобласта кролика обнаружены политенные хромосомы в виде рыхлых пучков хромонем с небольшими гетерохроматиновыми блоками (табл. XIII, *b*). Как и в трофобласте белой крысы, у кролика имеется стадия в цикле ядра, на которой хромосомы деконденсируются, хромонемы разъединяются на значительном протяжении и отходят друг от друга. В этих случаях ядро имеет сетчатую структуру (табл. XIII, *a*). Идентифицировать политенные хромосомы в трофобласте кролика еще сложнее, чем у крысы, из-за того что трудно отграничить отдельные пучки друг от друга. Легче всего удастся выявить ядрышкообразующие хромосомы; в них видны пучки параллельно расположенных хромонем, хромомеры которых образуют структуры типа дисков (табл. XIII, *a*). В ядрах с более конденсированными хромосомами диски и междисковые промежутки в ядрышкообразующих хромосомах выявляются более отчетливо (табл. XIII, *b*).

В гигантских ядрах в трофобласте кролика в период терминальной дифференцировки, предшествующей фрагментации ядер, обнаруживаются многочисленные парные хромосомы, напоминающие хромосомы эндомитоза (табл. XIII,

в, г). Это свидетельствует о значительной перестройке хромосомного материала, происходящей незадолго до фрагментации исходного ядра.

Политенные хромосомы в трофобласте мыши. В популяции высокополиплоидных клеток трофобласта мыши встречаются два типа ядер: с пучками конденсированных хромомов и с менее конденсированными хромомедами в политенных хромосомах (Зыбина, 1977). Для тех и других характерно присутствие крупных блоков гетерохроматина (табл. XIV), не встречающихся в трофобласте у белой крысы и кролика. Четко очерченные хроматиновые участки чаще всего имеют овальную или вытянутую, иногда — весьма причудливую форму (табл. XIV, б). В ядрах, содержащих пучки хромомов, политенные хромосомы неоднородны по длине, они имеют различную степень конденсации и присоединения хроматид друг к другу: от плотного гетерохроматического участка отходят пряди тонких нитей, имеющих хромомерное строение. Отдельные хромосомы набора отличаются друг от друга по величине, степени конденсации, форме и расположению гетерохроматических блоков (табл. XIV, в). К ядрышку прилегают крупные гетерохроматические участки, от которых в карิโอплазме радиально, в виде веера, отходят тонкие хромомы или более длинные продольные пряди, разъединяющиеся на концах и имеющие вид шлейфа (табл. XIV, в, г). Менее заметен переход хромосом в ядрышко, но внутри последнего отчетливо различим внутриядрышковый хроматин в форме тонких колец или более сложных образований (табл. XIV, в).

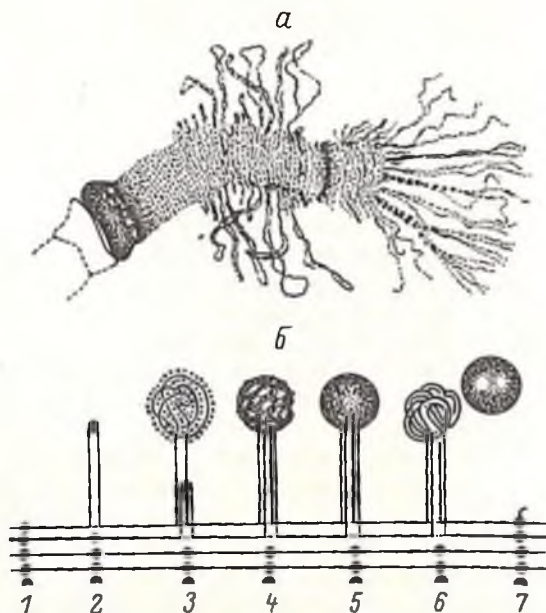
На стадии сетчатого ядра в трофобласте мыши гетерохроматические районы сохраняются, но несколько вытягиваются, удлиняются и окрашиваются более слабо (табл. XIV, д, е). Хромомы на значительных участках хромосомы становятся деконденсированными и рассеиваются по карิโอплазме. Это удается хорошо проследить на ядрышкообразующих хромосомах: в эухроматическом районе хроматиды деконденсируются сильнее и разъединяются на конце хромосомы, образуя шлейф (сравни табл. XIV, е и XIV, г). В месте перехода от гетерохроматического блока к ядрышку обнаруживаются едва намечающиеся диски (табл. XIV, е). Политенные хромосомы выявляются в гигантских клетках трофобласта мыши в течение непродолжительного времени, на определенном этапе дифференцировки клеток — только на 10-е и 11-е сут развития, позднее в ядре видны блоки гетерохроматина различной величины и очертаний, хромосомы же различить не удастся (Зыбина, 1977). Возможно, кратковременность их существования явилась причиной того, что многим авторам в течение долгого времени не удавалось обнаружить присутствие политенных хромосом в трофобласте мыши (Sherman et al., 1972; Barlow, Sherman, 1974; Pearson, 1974a).

Барлоу и Шерман (Barlow, Sherman, 1974) описали сетчатую структуру ядра и наблюдали отдельные случаи, когда в ядре хроматиновые нити располагались параллельно друг другу, давая начало более толстым прядям, несколько напоминающим участки политенных хромосом. Однако авторы не сочли правомочным использовать термин «политения», так как наблюдаемые ими картины сильно отличались от классических политенных хромосом и встречались в ядрах весьма редко. Одновременно с этим Барлоу и Шерман провели подсчет числа хромоцентров в ядрах диплоидных клеток и в гигантских клетках трофобласта. Было установлено, что хотя число хромоцентров колеблется в известных пределах, но в среднем соответствует таковому в диплоидных клетках. Это соответствие сохраняется в течение нескольких циклов эндоредупликации; Пирсон (Pearson, 1974b) считает это доказательством того, что число хромосом не увеличивается, а значит имеет место их политенизация.

Исследуя трофобласт мыши на 9-е сут развития, Пирсон (Pearson, 1974b) обнаружил ядра с диффузной хроматиновой сетью. На некоторых препаратах нити оказываются связанными друг с другом. Еще более отчетливо хроматиновые нити сходятся вместе в районе крупных хромоцентров; именно в этих участках можно наблюдать диски.

Таким образом, уже в начале 70-х годов некоторые авторы обнаруживали картины, сходные с теми, которые позволили более четко выявить у мыши политенные хромосомы с их характерными признаками (Зыбина, 1977). Неуде-

а — начало формирования боковых петель под действием увеличения температуры с 15 до 30 °С (через 10 мин после начала воздействия); боковые петли отходят лишь от поверхностных хромомер политенной хромосомы; *б* — схема формирования ядрышкоподобных тел на боковых петлях политенных хромосом у данного вида; *1* — конденсированные хромомеры соседних хромомер располагаются друг над другом, образуя диск; *2* — поверхностно расположенный хромомер образует боковую петлю; *3* — начало наработки материала будущего ядрышкоподобного тельца на конце боковой петли в виде мелких капель; одновременно происходит деконденсация соседнего хромомера, в то время как остальные конденсированы; *4* — синтезированные капли объединяются в ядрышкоподобное тельце; *5* — закончено образование ядрышкоподобного тельца; *6* — ядрышкоподобное тельце (вакуолизированное) отделяется от петли; *7* — процесс завершается полной конденсацией хромомеров.



Интересно отметить, что в ядрах гигантских клеток трофобласта мыши иногда можно выявить на боковой поверхности гетерохроматических блоков ядрышкообразующих хромосом множество тончайших боковых петель, выдающихся в карноплазму (табл. XIV, а). Они несколько напоминают многочисленных нити, отходящие от периферии конденсированных участков полительных хромосом в трофобласте крысы. Видно, что они образуют вокруг гетерохроматических блоков полительных хромосом мыши своеобразный чехол, состоящий из многих тонких хромосомных петель, несколько напоминающих боковые петли в хромосомах типа ламповых щеток, хорошо изученных в ооцитах позвоночных животных (Baker, 1963; Callan, 1963; Кикнадзе, 1966; Зыбина, 1968, 1969, 1975б; Гагинская, Грузова, 1969; Арронет, 1971, 1973; Райкова, 1976). Эти петли напоминающих таковые в хромосомах

Появление хромосомных петель, напоминающих таковые в хромосомах, типа ламповых щеток, в соматических клетках описано не только в трофобласте, но также и в политенных хромосомах растений. После температурного воздействия на клетки суспенсора фасоли *Phaseolus coccineus* и *Ph. vulgaris* (при перенесении растений из камеры с температурой 12—8 °C в среду 22 °C или из 22—15 °C в 30 °C) на политенных районах, а позднее по всей длине хромосомы петли, вначале в эухроматических хромосомах возникают узкие и длинные (рис. 27). Петли образуют муфту из тончайших хромосомных нитей, радиально отходящих от хромосомы, в результате чего внутри ядра возникает фибриллярная сеть. Анализ выделенных из ядра политенных хромосом показал, что боковые выступы состоят из двух нитей, замкнутых на дистальных концах т. е. имеющих вид петли ламповых щеток. Длина петель варьирует от 2 до 25 мкм. Такое состояние, подобное ламповым щеткам, продолжается 2—3 ч, затем петли вытягиваются в хромосому (Nagl, 1969b, 1970e, 1974). Еще одним примером выявления структур типа ламповых щеток в соматических клетках являются полиплоидные ядра в клетках стенки семенного фолликула саранчовых (Кикнадзе, Тутурова, 1970). Метка ³H-уридина обнаруживается именно на периферии хромосом, где располагается множество боковых петель (Кикнадзе, Истоминна, 1980). Образование хромосомных петель, как мы видели, возможно и на политенных хромосомах в трофобласте грызунов, у мыши

и крысы. Детальное изучение этого явления, по-видимому, удобнее проводить на выделенных хромосомах.

Политенные хромосомы во вторичных гигантских клетках трофобласта серой полевки. В отличие от трофобласта крысы и кролика в гигантских клетках трофобласта полевки политенные хромосомы выявляются лишь в очень ограниченный период жизненного цикла клетки. Нам удалось их обнаружить только во вторичных гигантских клетках 9-суточных зародышей. В этом случае, как и в трофобласте других изученных видов грызунов, наряду с ядрами, содержащими очень рыхлые, нечетко отделенные друг от друга пучки хромом, наблюдаются ядра с деконденсированными и равномерно рассеянными по кариоплазме тонкими хромосомными нитями (Зыбина, Черногрядская, 1976). Крупные ядрышки имеют сложную форму и образуют длинные выступы, от которых отпочковываются небольшие округлые ядрышки. В политенных ядрах женских особей присутствуют два крупных тельца полового хроматина.

В популяции более высокодифференцированных вторичных гигантских клеток в ядрах уже не выявляются политенные хромосомы в виде пучков хромом, а видны мелкие (примерно около 1 мкм) парные эндохромосомы или хромоцентры. Однако не исключена возможность, что они представляют собой парные хромоцентры, так как от них отходят в кариоплазму тончайшие нити. Чаще всего хромоцентры образуют довольно плотные скопления под ядерной оболочкой и около ядрышек. Отличительной особенностью таких ядер является присутствие в них большого количества округлых ядрышек. В первичных гигантских клетках трофобласта, более дифференцированных, чем вторичные клетки, число ядрышек может доходить до нескольких десятков (Зыбина и др., 1975а; Зыбина, 1976б). Таким образом, характерной особенностью политенных хромосом в гигантских клетках трофобласта полевки является большая лабильность их структуры.

Политенные хромосомы в сверхгигантских клетках трофобласта серой полевки. Супергигантские клетки трофобласта у серой полевки представляют собой особую небольшую популяцию, которая отделена от непрерывного пласта клеток трофобласта и мигрирует на значительные расстояния в глубь decidua basalis и decidua capsularis. Число супергигантских клеток в каждой плаценте невелико, варьирует от 3 до 7—10. Отделяясь от непрерывного пласта клеток трофобласта, они продолжают расти и превосходят в значительной степени по величине (и, вероятно, по степени плоидности) исходные клетки. Поэтому мы назвали «сверхгигантскими». Последние являются активными фагоцитами, не отличаясь по морфологии и фагоцитарной активности от исходных первичных и вторичных клеток, от которых они и происходят. В широкой зоне цитоплазмы сверхгигантских клеток можно обнаружить как отдельные захваченные децидуальные клетки, так и целые их скопления. Большинство сверхгигантских клеток лежат на самой границе с мышечной оболочкой рога матки и часто в результате сильного растяжения маточной стенки приобретают вытянутую форму с овальным ядром. Функциональное значение сверхгигантских клеток пока неизвестно, однако совершенно очевидно, что они не выполняют трофическую функцию, поскольку отделены от зародышевой части плаценты и располагаются изолированно в материнской части плаценты. Не исключена возможность, что сверхгигантские клетки трофобласта выполняют секреторную функцию.

В период с 9-х по 15-е сут развития были детально прослежены изменения структуры хромосом и ядрышек в сверхгигантских клетках трофобласта (Зыбина, 1984; Зыбина, Зыбина, 1985). Ядра этих клеток, расположенных в толще к ретикулярной структуре, содержат очень длинные тонкие хроматиновые нити с попарно лежащими хромомерами. Уже на этой стадии хромосомы несколько напоминают политенные и располагаются в непосредственной близости к ядерной мембране; центральная часть кариоплазмы свободна от хромосомного материала. В более дифференцированных сверхгигантских клетках ядра объединены в довольно короткие пучки, лежащие под ядерной

оболочкой (табл. XV, а), по внешнему виду они несколько напоминают гигантские хромосомы растений. Хромосомные пучки состоят на первый взгляд из беспорядочно располагающихся нитей, упорядоченную внутреннюю структуру их выявить пока не удастся. Однако, по всей вероятности, она не соответствует характерному для классических политенных хромосом строгому присоединению гомологичных как хромомерных, так и межхромомерных районов, которое и обуславливает наличие дискового рисунка. На периферии хромосомных пучков видны радиально отходящие нити с парными хромомерами. Несколько более разрыхленные пучки выявляются в районе ядрышка.

В одном сверхгигантском ядре количество ядрышек вначале невелико — приблизительно от 3 до 5 (табл. XV, б). Они имеют округлую или овальную форму и так же, как и пучки политенных хромосом, располагаются или непосредственно под ядерной оболочкой, или неподалеку от нее, так что центральная часть кариоплазмы оказывается свободной. Детальное изучение крупных ядрышек показало, что они не гомогенны, а состоят из очень большого количества микроядрышек, тесно прилегающих друг к другу (табл. XV, б), величина их примерно одинакова. На препаратах, окрашенных по Фельгену, можно видеть, что каждое такое микроядрышко окружено Фельген-положительным кольцом. Последнее, вероятно, представляет собой участки ядрышкового организатора или же прилежащие к нему районы ядрышкообразующих хромосом. В этом заключается существенное отличие структуры ядрышка при политении в сверхгигантских клетках трофобласта полевки от гигантских ядрышек, описанных в трофобласте белой крысы, кролика, мыши (Зыбина, 1977). Во всех этих случаях имеется единственное ядрышко (иногда сильно лопастное), не подразделенное на какие-либо отдельные. При этом, по-видимому, все ядрышкообразующие хромосомы участвуют в формировании единственного ядрышка, причем все они имеют довольно отчетливо выраженное политенное строение; и в отличие от остальных хромосом набора ядрышкообразующие хромосомы более всего проявляют свойства классических политенных хромосом. У полевки же, напротив, тенденция к соединению сестринских хромомер в ядрышкообразующих хромосомах выражена минимально, что находит свое выражение в ячеистом строении ядрышка супергигантских клеток, где каждое микроядрышко, вероятно, принадлежит одной из сестринских хроматид.

Следует тут же заметить, что сложная форма ядрышка во вторичных гигантских клетках трофобласта у серой полевки, по-видимому, является отражением той же тенденции. Поэтому не столь неожиданной оказалась обнаруженная нами способность крупных ядрышек в сверхгигантских клетках трофобласта полевки позднее распадаться на отдельно лежащие микроядрышки (табл. XV, в). Размеры последних в диплоидных ядрах. Этот процесс расселения превышают размеры ядрышек в диплоидных ядрах. Интересно, что крупные ядрышки в одном дить даже в пределах одного ядра. Интересно, что крупные ядрышки в одном ядре могут не одновременно разделяться на микроядрышки (табл. XVI, а, в, г): в ядре иногда присутствуют как крупные, составленные множеством ячеек ядрышки, так и разрыхленные скопления микроядрышек, от которых в разные стороны отделяются единичные микроядрышки, окруженные прилежащими участками хроматина. При этом и остальные пучки политенных хромосом (не только ядрышкообразующих) претерпевают постепенное разъединение на отдельные хромомеры (табл. XVI, б, г) — они становятся более разрыхленными, от их поверхности последовательно отделяются длинные тонкие нити, имеющие спиральную форму (табл. XVI, а, г), а иногда — более конденсированные хромосомные тяжи. Часто можно видеть парные хромосомные тяжи с хромомерами, идущие параллельно друг другу. Таким образом, становится более ясной картина распада пучков политенных хромосом на эндохромосомы: вначале происходит разрыхление конденсированного пучка хромосомы, затем отдельные хромомеры отходят от его поверхности. Хромосомные тяжи, отделившиеся от исходного пучка, накапливаются преимущественно вблизи ядерной оболочки, напротив, микроядрышки занимают всю центральную часть ядра (табл. XV, в).

Вследствие полного разделения всех ядрышек на множество мелких кариоплазма оказывается заполненной примерно одинаковыми по величине микроядрышками, рассеянными по всему ядру (табл. XV, в). В результате наблюдается полное разъединение всех хромосомных пучков на хромомемы (эндохромосомы), вследствие чего морфология ядра сильно изменяется: центральная часть кариоплазмы становится заполненной огромным числом мелких ядрышек, на периферии ядра скапливается множество тонких хромосомных нитей. В ряде случаев процесс разъединения политенных хромосом сопровождается конденсацией их хромомем; это приводит к тому, что периферическая часть ядра оказывается заполненной округлыми или палочковидными парными хромосомами (табл. XV, г), которые по морфологии сходны с хромосомами эндомитоза, описанными, к примеру, у некоторых видов беспозвоночных (Geitler, 1953; Соколов, 1967а, 1967б; Кикнадзе, Истомина, 1972), а также в некоторых опухолях и в трофобласте человека (Sarto et al., 1982; Therman et al., 1983).

Некоторые данные о политении и эндомитозе в трофобласте человека. Первое сообщение об эндомитозе и политении в нормальных клетках плаценты человека, принадлежащее Сарто с соавторами (Sarto et al., 1982), появилось лишь в 1982 г. Вначале было обнаружено, что в плаценте человека в первую треть беременности кроме клеток цитотрофобласта присутствуют гигантские клетки, диаметр ядра которых варьирует от 5 до 20 мкм и даже несколько выше. Только у одного индивидуума изредка встречались ядра размером 50—60 мкм (на 65-сутки беременности). Морфология ядер сильно варьировала — от сетчатых, напоминающих интерфазные, до ядер, где выявляются типичные темноокрашенные хромосомы эндомитоза (табл. XVII, а—г). Кроме того, авторам удалось наблюдать ядра, где выявляются пучки параллельно расположенных хроматиновых нитей, которые в отдельных участках образуют структуры, напоминающие диски, описанные в политенных ядрах трофобласта грызунов (Зыбина, 1961, 1977). Такие структуры Сарто, Терман и их соавторы (Sarto et al., 1982; Therman et al., 1983) склонны рассматривать как определенный тип политенных хромосом, сходных с политенными хромосомами в трофобласте плаценты человека более свойственны злокачественным опухолям трофобласта, но изредка они встречаются и в нормально развивающейся плаценте и не обнаруживают признаков дегенерации клеток. На основании этих данных авторы считают, что дифференцировка цитотрофобласта в отдельных его участках предполагает вхождение клеток трофобласта в цикл эндомитоза (или политении) и последующее многократное умножение хромосомного материала.

Пока еще данные о политении в трофобласте человека чрезвычайно фрагментарны, отсутствие детального цитоморфологического анализа, а также данных авторадииграфии и цитоспектрофотометрии не позволяет с уверенностью судить о том, в каких случаях имеет место политения или эндомитоз и каково соотношение этих процессов при дифференцировке трофобласта у человека. Однако морфологические картины, представленные на некоторых фотографиях, все же дают некоторое основание полагать, что политения в трофобласте человека имеет место, особенно при максимальных уровнях плоидности. Дальнейшее накопление подобного рода фактов должно в скором времени решить вопрос о наличии политенных хромосом у человека.

Изучение политенных хромосом с помощью фазово-контрастной микроскопии

При исследовании с помощью фазового контраста морфология высокоэндополиплоидных ядер в трофобласте крысы и кролика оказывается несколько иной. В части ядер клеток трофобласта крысы и кролика обнаруживаются рассеянные по кариоплазме длинные тяжи хромосом (табл. XVII, А, б, г, д). Однако преимущественно они локализуются под ядерной мембраной. Из-за довольно тесного переплетения хромосом друг с другом исследовать их строение на всем протяжении и определить их длину нам не удалось. В хромосомах выявляются узкие темные диски, образованные хромомерами, и широкие.

более светлые междисковые пространства (табл. XVII, А, д). Так же как и на окрашенных препаратах, наряду с ядрами, в которых обнаруживаются политенные хромосомы, имеются ядра, содержимое которых более гомогенное, — сетчатые ядра (табл. XVII, А, а, в). Кариоплазма последних заполнена многочисленными тонкими извитыми фибриллами с парными хромомерами. В отдельных участках ядра, чаще всего под ядерной мембраной, соседние фибриллы могут лежать параллельно друг другу; в этом случае хромомеры соседних хромомером расположены почти на одном и том же уровне (табл. XVII, А, в). Создается впечатление, что при кажущемся беспорядочном рассеивании деконденсированных хромосомных нитей по кариоплазме все же сохраняется определенная их ориентация в ядре, которая иногда легко прослеживается. В ряде случаев удается различить участки прикрепления терминальных концов хромосом к ядерной мембране. Довольно часто по длине хромосомы наблюдаются структуры типа дисков (табл. XVII, А, д).

Разъединение пучков на отдельные хромомеры на стадии сетчатого ядра не затрагивает, по-видимому, некоторых районов хромосом. Так, в ядрышкообразующих хромосомах хромомеры остаются в тесном контакте друг с другом и сохраняют политенную структуру и на переходной стадии от сетчатого ядра к ядру, содержащему пучки хромомером (Зыбина, Черноградская, 1976). Ядра клеток трофобласта крысы более низкой степени плоидности отличаются по морфологии от высокополиплоидных — они содержат небольшие парные хромосомы, располагающиеся под ядерной оболочкой и на поверхности ядрышек. Эти картины сходны с теми, которые мы наблюдали на окрашенных препаратах (Зыбина, 1970; Зыбина, Черноградская, 1976).

При изучении гигантских клеток трофобласта с фазовым контрастом достаточно четко обнаружены политенные хромосомы только у двух из трех изученных нами видов грызунов: во вторичных гигантских клетках трофобласта крысы и в антимеристемальных (облацентарных) гигантских клетках кролика. У полевки же на изученной стадии выявляются крупные хромосомы или эндохромосомы.

Следует обратить внимание на то, что морфология политенных хромосом в ядрах клеток трофобласта грызунов может зависеть от применяемых методов исследования. Если на обычных давленных препаратах, окрашенных ацеорсеином или обработанных по Фельгену, политенные хромосомы имеют вид широких и довольно коротких пучков хромомером, то при исследовании ядер с фазовым контрастом в них обнаружена сеть из узких и длинных хромосомоподобных структур. Возможно, что причину этого явления следует искать в изменении морфологии хромосом под влиянием дополнительных воздействий при проведении реакции Фельгена или окраске ацеорсеином.

Барлоу и Шерман (Barlow, Sherman, 1974) не смогли обнаружить политенные хромосомы в ядрах гигантских клеток трофобласта мыши и крысы, используя наряду с обычными методами и фазово-контрастную микроскопию, что это объясняется, по-видимому, сильным повреждением клеток при приготавлении постоянных давленных препаратов. Мы проводили свои наблюдения структуры эндполиплоидных ядер с фазовым контрастом только на временных давленных препаратах. С помощью фазово-контрастной микроскопии подтверждены данные наших наблюдений, проведенных на окрашенных препаратах, о временном характере выявления политенности в цикле ядра гигантских клеток трофобласта крысы и кролика (Зыбина, 1970; Зыбина, Черноградская, 1976). Вместе с тем использование фазового контраста позволило выявить несколько иную морфологию политенных хромосом — в виде длинных тяжей вместо коротких толстых пучков.

Политенные хромосомы в трофобласте грызунов отличаются от классических политенных хромосом *Diptera* по ряду признаков. Они имеют не вполне типичный вид, который в свою очередь может различаться в зависимости от способов приготовления препаратов. Не исключена возможность, что эти явления (непостоянство выявления политенности в цикле ядра и в ходе дифференцировки клетки) обусловлены такой особенностью политенных хромосом млекопитающих, как высокая лабильность их структуры, что находит отражение в различной способности к притяжению и разъединению хромомером на значи-

тельных участках хромосомы, а также к их растяжению и сокращению как в ходе нормального жизненного цикла клетки, так и под воздействием тех или иных внешних факторов.

Последнее находит подтверждение в работе Сноу и Ансела (Snow, Ansell, 1974). Обработка клеток трофобласта мыши, растущих в условиях культуры ткани, актиномицином D привела к значительной конденсации хроматина и к образованию в ядре вытянутых хромосомоподобных телец, отличающихся по своей морфологии от митотических хромосом лишь меньшей отчетливостью очертаний. По мнению авторов, эти тельца представляют собой хромосомы или их наиболее конденсированные участки. Число таких телец примерно равно диплоидному. Поскольку при изучении ядер гигантских клеток трофобласта различной степени пloidности (от 4с до 256с) число хромосомоподобных телец оставалось околодиплоидным, Сноу и Ансел делают вывод о политенной природе таких хромосом. Политенные хромосомы, обнаруженные этими авторами в ходе нескольких последующих раундов полиплоидизации, претерпевают только вытягивание в длину, но существенно не изменяются в диаметре. В ядрах клеток трофобласта низких классов пloidности такие тельца обнаруживаются хромомерную структуру, сходную с дисками политенных хромосом *Diptera*.

Таким образом, морфологическое исследование структурной организации высокополиплоидного ядра в гигантских клетках трофобласта грызунов позволило обнаружить политенные хромосомы. Эти данные свидетельствуют в пользу того, что полиплоидизация ядер трофобласта осуществляется путем эндоредупликации. На сродстве с другими типами политенных хромосом и их отличительных чертах мы остановимся несколько ниже, после рассмотрения некоторых функциональных особенностей политенных хромосом в трофобласте грызунов.

Две стадии в цикле политенного ядра в зависимости от времени синтеза ДНК и морфологии хромосом

Как уже говорилось ранее, ядра гигантских клеток трофобласта различаются по своей морфологии. В одних ядрах карิโอплазма прозрачна, политенные хромосомы имеют вид пучков хромонем, лежащих преимущественно под ядерной оболочкой и примыкающих к ядрышку (табл. XI, *д—ж*). У другого типа ядер всю карิโอплазму заполняют очень длинные и тонкие парные Фельгенположительные нити с хромомерами. Хромонемы деконденсированы и разъединены, по-видимому, на значительных участках хромосом — стадия сетчатого ядра (табл. XII, *а*). Для того чтобы разобраться в причинах такого разнотипия структуры гигантских ядер, было проведено специальное авторадиграфическое исследование синтеза ДНК в различных по морфологии типах ядер гигантских клеток трофобласта крысы.

Морфологическое изучение структуры ядер вторичных гигантских клеток в сочетании с данными авторадиграфии показало, что при фиксации плаценты крысы через 4 ч после введения предшественника ^3H -тимидина мечеными оказываются только ядра с равномерно распределенными по карิโอплазме хроматиновыми нитями, тогда как ядра, содержащие пучки хромонем, не включают метку (табл. X, *г*). Через 24 ч включают метку ^3H -тимидина как ядра с деконденсированным хроматином (сетчатое ядро), так и ядра с пучками политенных хромосом (Зыбина, 1963б). Таким образом, проведенное исследование позволило установить, что ядра с деконденсированным и равномерно распределенным по карิโอплазме хроматином, по-видимому, находятся на стадии синтеза ДНК (*S*-фаза), в то время как ядра с конденсированными хромосомными пучками соответствуют той фазе цикла, когда синтез ДНК отсутствует (*G*-фаза). Таким образом, обнаружение политенных хромосом не во всех ядрах гигантских клеток трофобласта, а только в определенной их части обусловлено изменениями структуры хромосом в цикле репликации политенного ядра: на стадии *G* степень присоединения хромонем в политенных хромосомах, по-видимому, намного больше, чем на стадии *S*. Следует, однако, оговориться, что указанная закономерность относится к гигантским ядрам лишь

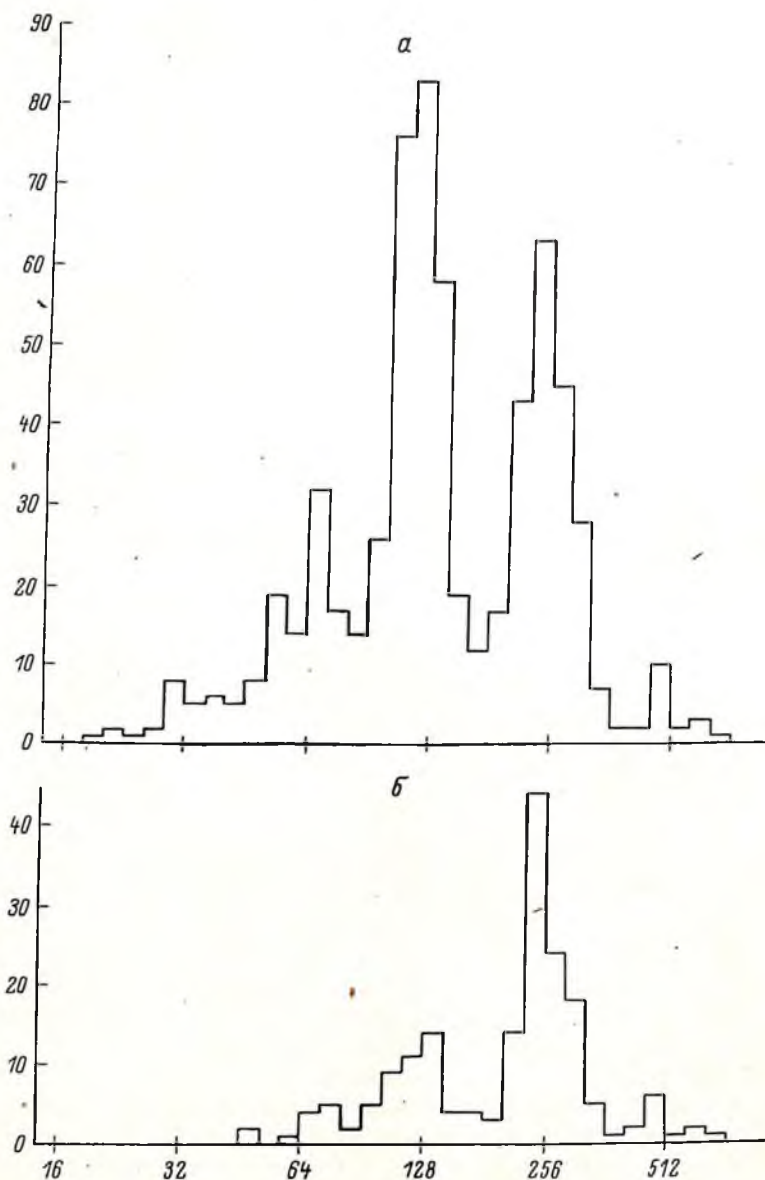


Рис. 28. Распределение ядер вторичных гигантских клеток трофобласта по содержанию ДНК в зависимости от структуры поличенного ядра.

Распределение ядер: *a* — всех, независимо от их структуры; *б* — с пучками хромонем; *в* — промежуточной структуры; *г* — сетчатых. Обозначение осей то же, что на рис. 12.

хромосомы еще не вполне сформированы (они выявляются лишь начиная с уровня 64с).

При анализе гистограмм обращает на себя внимание тот факт, что в случае ядер с сетчатой структурой хроматина не наблюдается столь же четких пиков, как в ядрах с пучками поличенных хромосом и переходного типа. Напротив, в последних двух случаях модальные значения почти всех классов плоидности соответствуют теоретически ожидаемым средним (рис. 28, *б*, *в*). Таким образом, ядра, в которых более или менее отчетливо выявляются поличенные хромосомы, характеризуются относительно стабильным содержанием ДНК — таким, каким оно должно быть при кратном умножении хромосомного материала в ряде последовательных циклов. Наличие четких пиков обусловлено отсутствием синтеза ДНК в ядрах пучкового строения: процесс репликации может происходить лишь в ядрах сетчатого строения (Зыбина, 19636). Таким образом, результаты цитоспектрофотометрического исследования подтверждают вывод о том, что ядра пучкового и сетчатого строения представляют собой разные стадии

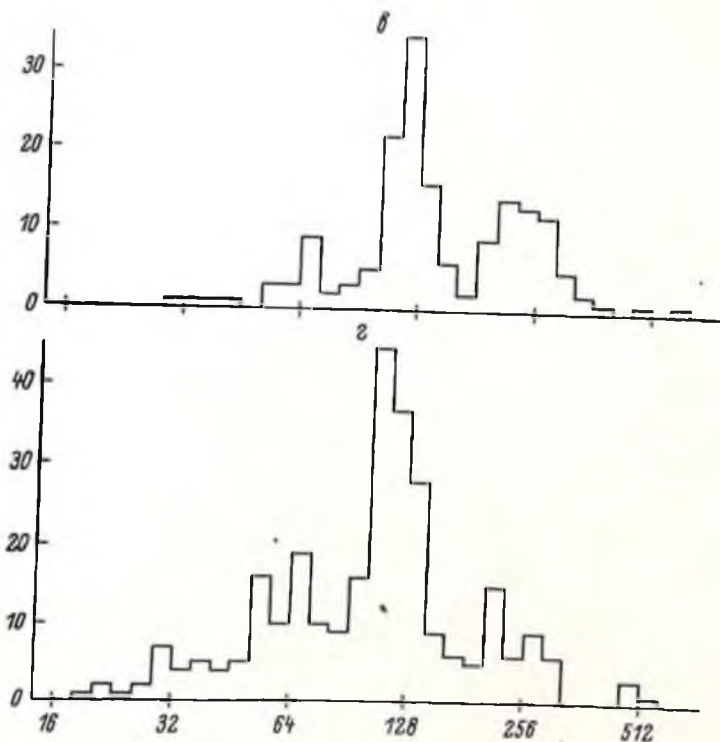


Рис. 28 (продолжение).

в цикле политенизации. При этом из трех рассмотренных в настоящей работе типов ядер репликация ДНК скорее всего может осуществляться лишь в ядре с сетчатой структурой, а ядра с пучками политенных хромосом и переходного типа в синтезе ДНК не участвуют. Эти данные лишний раз подтверждают предложенную ранее характеристику двух стадий в цикле политенного ядра в случае неклассической политении: стадия сетчатого ядра соответствует S-фазе, ядра с пучками политенных хромосом — G-фазе.

Половой хроматин как маркер интерфазного ядра при изучении полиплоидизации клеток

Представляет интерес изучение телец Барра в полиплоидных ядрах, поскольку морфологическая характеристика гетеропикнотических половых хромосом, как уже говорилось выше, может способствовать определению степени полиплоидии, а также дает некоторое представление о поведении отдельных хромосом при полиплоидизации клеток, особенно в тех случаях, когда невозможно выявить отдельные хромосомы набора, например в интерфазе. В связи с этим половой хроматин можно рассценивать как своеобразный маркер интерфазного ядра, позволяющий судить о способах умножения генома.

В тетраплоидных ядрах гепатоцитов крысы и человека были обнаружены две положительно гетеропикнотические и две изопикнотические X-хромосомы; в интерфазных ядрах было найдено по два тельца полового хроматина. В тетраплоидных ядрах самцов не было обнаружено ни телец Барра в интерфазных ядрах, ни гетеропикнотических X-хромосом в митозе (Reitalu, 1957; Ohno et al., 1959). Таким образом, в данном случае при полиплоидизации число гетеропикнотических X-хромосом в митозе и число телец Барра в интерфазных ядрах увеличиваются в соответствии со степенью плоидности.

Увеличение числа глыбок полового хроматина при полиплоидизации было показано и в других тканях человека — амнионе, хорионе и в клетках злокачественных опухолей (Atkin, 1958; Klinger, 1958, и др.). Однако ядра

полиплоидных клеток могут содержать несколько телец полового хроматина, размер которых соответствует тельцу Барра диплоидной клетки, либо одно тельце, но более крупное, чем в диплоидных ядрах, образовавшееся, вероятно, в результате слияния гетеропикнотических половых хромосом между собой (Klinger, Schwarzacher, 1958, 1960; Зыбина, Мосьян, 1967). Клингер и Шварцахер попытались определить, соответствует ли содержание ДНК в тельцах Барра степени плоидности ядра как в случае единичных телец Барра, так и множественных. При исследовании ядер клеток амниона эмбриональной печени человека оказалось, что в полиплоидных клетках особей женского пола содержание ДНК в тельцах полового хроматина прямо пропорционально общему содержанию ДНК ядра. В трех изученных ими классах ядер при небольшой степени плоидности (2с, 4с, 8с) отношение содержания ДНК в тельцах Барра к содержанию ДНК в ядре оказалось постоянным. Таким образом, методом цитоспектрофотометрии было показано строгое соответствие между степенью полиплоидии интерфазного ядра и содержанием ДНК в инактивированных X-хромосомах.

С другой стороны, морфологические наблюдения за половыми хромосомами и тельцем Барра могут в некоторых случаях помочь расшифровать механизм полиплоидизации. Например, в случае эндомитоза, когда хромосомы претерпевают конденсацию и разделение в центромерном районе, можно выявить гетеропикнотические X-хромосомы и подсчитать их число. Таким способом была определена степень полиплоидии различных тканей у водоемки *Gerris lateralis* (Geitler, 1953). А. А. Прокофьева-Бельговская (1960) обнаружила, что в полиплоидных клетках оболочки семенника кузнечика *Stenobothrus parallelus* по числу половых хромосом также можно судить о степени полиплоидии ядер. Пропорциональное увеличение числа гетеропикнотических хромосом эндомитоза наблюдалось в клетках стенки семенного фолликула у пустынной саранчи *Schistocerca gregaria* (Истомина, 1976).

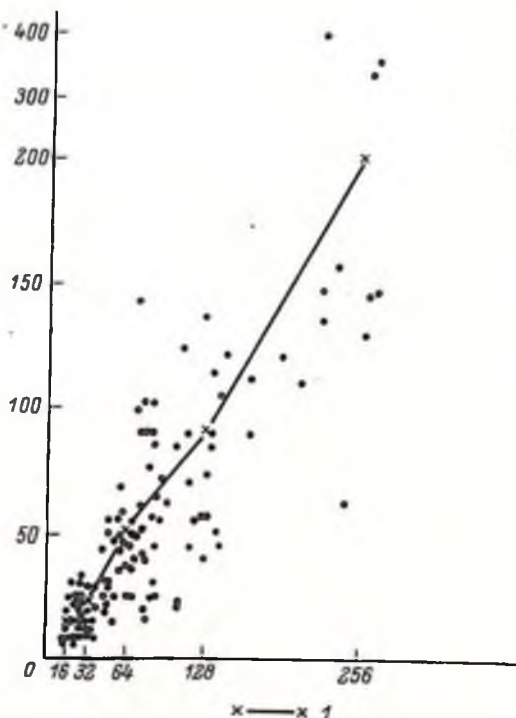
В случае эндоредупликации поздноредуплицирующаяся половая хромосома, находящаяся в гетеропикнотическом состоянии, образует, так же как и аутосомы, диплохромосому, представляющую собой две параллельно расположенные хромосомы, тесно прилегающие друг к другу по длине. Связь между сестринскими хромосомами утрачивается только во время анафазы (Schwarzacher, Schnedl, 1966). Напротив, при полиплоидизации эпителиальных клеток стенки мужской гонады пауков (в случае выявления эндомитотических хромосом) наблюдается образование более сложного комплекса половых хромосом. Сложные X-хромосомы ($X_1X_2X_3O$) после редупликации не рассеиваются по ядру, а остаются вместе, соединяясь друг с другом последовательно (конец в конец), и образуют довольно плотный клубок. Таких половых комплексов в одном ядре может быть один-два (Соколов, 1967б). В этом случае по числу гетеропикнотических X-хромосом степень полиплоидии определить невозможно.

Можно предположить, что и в гигантских клетках трофобласта, где репродукция хромосом осуществляется путем политенизации, еще в большей степени, чем в предыдущем случае, могут действовать силы притяжения, способные удерживать вместе сестринские хромомемы, что, возможно, и приводит к образованию единого комплекса гетеропикнотических половых хромосом — тельца Барра. Таким образом, если при эндомитозе происходит увеличение числа как изопикнотических, так и гетеропикнотических хромосом, то в цикле политенизации наблюдается лишь увеличение единственного тельца полового хроматина, а также укрупнение пучков политенных хромосом без увеличения их числа (Зыбина, 1960, 1964, 1965).

Для того чтобы доказать, что при политенизации гетеропикнотической X-хромосомы сестринские хроматиды в ходе последовательно протекающих раундов эндоредупликации не отделяются друг от друга, необходимо было показать, что в тельце Барра содержание ДНК увеличивается пропорционально увеличению степени плоидности ядра. С этой целью предпринято цитоспектрофотометрическое изучение содержания количества ДНК в ядрах гигантских клеток трофобласта крысы и одновременно в тельцах Барра тех же ядер в тех случаях, когда клетки достигают очень высокой степени полиплоидии

Рис. 29. Зависимость между содержанием ДНК в тельцах Барра и степенью плоидности ядер гигантских клеток трофобласта крысы.

1 — средние значения содержания ДНК в тельце Барра при разном уровне плоидности ядра. По оси абсцисс — содержание ДНК, с, в ядрах клеток трофобласта; по оси ординат — содержание ДНК, усл. ед., в тельцах Барра тех же ядер.



(256—512с). Исследовались клетки трофобласта только от зародышей женского пола, на 11—13-е сут развития. По уровню плоидности выделено пять классов ядер: 16с, 32с, 64с, 128с и 256с (табл. XVIII). В высокополиплоидных ядрах клеток трофобласта имеет место прямо пропорциональная зависимость между содержанием ДНК в тельце полового хроматина и общим содержанием ДНК в ядре (Зыбина, Мосьян, 1967) (рис. 29; табл. 5). Такая зависимость сохраняется на протяжении нескольких циклов эндоредупликации (до семи). Из табл. 5 следует, что в полиплоидных клетках трофобласта в тельце Барра содержание ДНК увеличивается

(от 15.9 до 250.0 усл. ед.) с каждым удвоением ДНК в полиплоидном ядре (от 325.5 до 4650.0 усл. ед.), а соотношение содержания ДНК в ядре и в тельце Барра остается практически постоянным, оно равно 20—24. На рис. 29 представлена индивидуальная характеристика каждой клетки по количеству ДНК в тельце Барра и по степени плоидности ядра, из которой видно, что между этими величинами существует прямо пропорциональная зависимость. Рассчитанный коэффициент корреляции подтверждает это ($r = 0.66 \pm 0.05$).

Аналогичное исследование было проведено на гигантских клетках трофобласта кролика на 13-е сут развития зародыша — в период, когда в них выявляются политенные хромосомы. И в этом случае популяция клеток трофобласта по уровню плоидности ядер оказалась неоднородной: ядра в этот период имеют степень плоидности от 16с до 256с, но преобладают ядра 32с и 64с (Зыбина и др., 1980). Оказалось, что, как и в предыдущем случае, содержание ДНК в тельце Барра возрастает с увеличением степени плоидности (рис. 30) и зависимость между содержанием ДНК в тельце Барра и степенью плоидности ядра близка к прямо пропорциональной. Рассчитанный коэффициент ранговой корреляции ($\rho = 0.51$) также свидетельствует о наличии положительной связи между содержанием ДНК в тельце полового хроматина и в целом ядре при возрастании уровня плоидности ядра.

Умножение ДНК в тельце Барра в ходе эндоредупликации свидетельствует о том, что половой хроматин в гигантских клетках трофобласта, возможно,

Таблица 5

Содержание ДНК в тельце Барра и в ядрах гигантских клеток трофобласта крысы

Степень плоидности ядра, с	Число измеренных ядер	Содержание ДНК, усл. ед.		Отношение содержания ДНК в ядре к его содержанию в половом хроматине
		в тельце полового хроматина	в ядре	
1 (спермин)	65	—	16.6 ± 0.4	—
16	24	15.9 ± 1.66	325.5 ± 13.16	20.4
32	32	23.6 ± 2.23	591.0 ± 24.9	20.8
64	43	50.8 ± 3.91	1158 ± 30.9	22.8
128	21	90.6 ± 9.32	2172 ± 77.7	23.9
256	10	20.5 ± 39.10	4650.0 ± 394.0	22.7

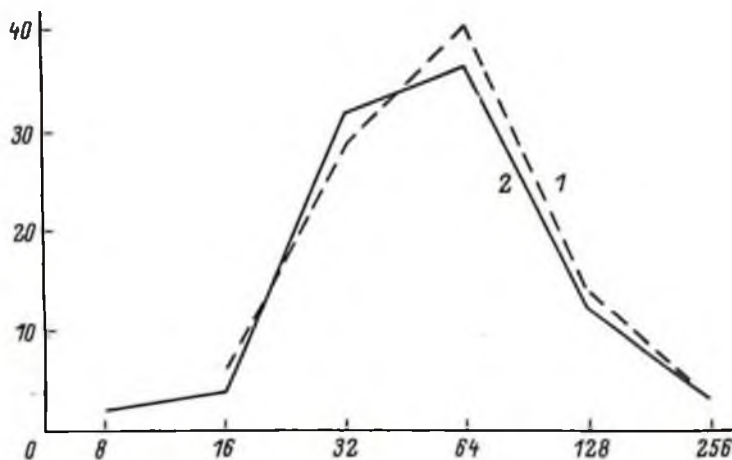


Рис. 30. Распределение ядер (1) и телец Барра (2) по степеням плоидности в гигантских клетках трофобласта кролика.

По оси абсцисс — степень плоидности, c; по оси ординат — число ядер и телец Барра.

является конденсированной «политенной X-хромосомой», что указывает на сходный характер поведения конденсированного и неконденсированного хроматина при политенизации ядер. В свою очередь в гигантских клетках трофобласта, где далеко не всегда хорошо выявляются политенные хромосомы и четкость их рисунка может варьировать в течение цикла ядра, а также от вида к виду (Зыбина, 1977), умножение материала тельца Барра при неизменности числа телец может служить дополнительным указанием на политенную природу этих ядер. В то же время регулярная репродукция инактивированной X-хромосомы в ходе прогрессивно протекающей полиплоидизации ядра косвенно может свидетельствовать о правильной погеномной репликации отдельных хромосом набора.

В качестве маркера интерфазного ядра поведение тельца Барра может помочь также расшифровке механизмов полиплоидизации, предполагающих увеличение числа хромосом. Одним из примеров является изучение механизмов полиплоидизации в клетках трофобласта соединительной зоны плаценты крысы (Зыбина и др., 1984б, 1984в). Как известно, в этом отделе плаценты встречаются полиплоидные митозы, умножение хромосомного материала может происходить по типу незавершенных полиплоидизирующих митозов (Зыбина, 1981в; Зыбина и др., 1984в). На 13-е и 14-е сут клетки трофобласта этого отдела плаценты имеют степень плоидности от 2c до 64c, причем на 13-е сут преобладают ядра 2c и 4c, а на 14-е сут доля диплоидных ядер значительно снижается, при этом увеличивается класс 8c. В ядрах присутствует одно,

Таблица 6

Количество телец Барра в различных клеточных популяциях трофобласта крысы

Тип клеточной популяции	Срок разви- тия, сут	Митотиче- ский ин- декс, %	Общее число ядер	Ядра. %				Отношение числа ядер с двумя и более тельцами Барра ко всем ядрам с тель- цами Барра
				без телец Барра	с тельцами Барра			
					одним	двумя	всего	
Вторичные гигант- ские клетки	12	—	697	21.8	75.6	2.6	78.2	3.3
Третичные гигант- ские клетки	12	—	160	31.9	58.1	10.0	68.1	14.7
Клетки эктоплацен- тарного конуса	12	5	303	24.8	63.7	11.6	75.2	15.4
Клетки соедини- тельной зоны плаценты	13	8.6	107	20.6	70.1	9.3	79.4	11.8
	14	10.4	214	13.1	71.5	15.4	86.9	17.7

два и более телец Барра, причем в количественном отношении все же преобладают ядра с одним тельцем — 71.5 % (табл. 6).

Как видно из табл. 6, тельце Барра отсутствует в 13.1 % ядер, а в 15.5 % ядер их два и более (до четырех). Во вторичных гигантских клетках лишь 3 % ядер содержат два тельца Барра, а в 75.6 % ядер присутствует одно (табл. 6). В ядрах клеток трофобласта тех популяций, умножение генома в которых осуществляется, по-видимому, путем незавершенных митозов, число ядер с двумя и более тельцами Барра значительно выше, чем в политенных ядрах. В ходе прогрессивной полиплоидизации на 13-е и 14-е сут развития происходит изменение соотношения ядер с разным числом телец Барра (рис. 31). В обоих случаях с повышением уровня плоидности вплоть до 32с наблюдается увеличение доли ядер с двумя и более тельцами полового хроматина (Зыбна и др., 1984в).

Диплоидные ядра всегда содержат одну глыбку полового хроматина; среди тетраплоидных уже довольно много ядер с двумя тельцами Барра, но разрыв в соотношении ядер с одной глыбкой и с двумя еще велик; для октаплоидных ядер на 13-е сут это соотношение близко к 1 : 1, на 14-е сут оно несколько ниже; для ядер 16с оно еще более выравнивается (рис. 31). Так или иначе, приведенные данные свидетельствуют о наличии тенденции к увеличению числа ядер с двумя тельцами Барра и более в ходе полиплоидизации (рис. 31). Хотя нет оснований говорить о прямо пропорциональной зависимости между уровнем плоидности и числом телец полового хроматина, выявленная закономерность косвенно свидетельствует о том, что умножение генома сопровождается увеличением числа инактивированных половых хромосом (тельца Барра), что лишний раз свидетельствует о полиплоидизации путем незавершенных митозов.

Сопоставление степени плоидности ядер и количества телец полового хроматина проведено также на клетках предсердий человека в норме и при гипертрофии (Мартынова и др., 1983). В норме основная часть ядер соответствует 2с и 4с, тогда как в гипертрофированных предсердиях от 60 до 87 % приходится на долю ядер 8с, 16с и 32с. Подсчет телец полового хроматина в ядрах миоцитов женских предсердий показал в диплоидных ядрах присутствие всегда одного тельца полового хроматина (диаметром около 0.35 мкм), в тетраплоидных — не более двух телец того же размера, в октаплоидных — не более четырех, в декагексаплоидных — до 8 и в ядрах 32с — до 16 телец полового хроматина. В большинстве полиплоидных ядер наблюдается число телец Барра ниже максимального, и глыбки в этих случаях крупнее, вероятно, из-за слияния отдельных телец. Характер распределения телец Барра свидетельствует в пользу того, что увеличение количества ДНК в ядрах кардиомиоцитов человека происходит по типу «истинной» полиплоидии.

Все эти примеры показывают, что поведение гетеропикнотических половых хромосом, по-видимому, может отражать некоторые процессы хромосомных преобразований, общие для всех хромосом набора, и дают дополнительные сведения о способах полиплоидизации различных тканей.

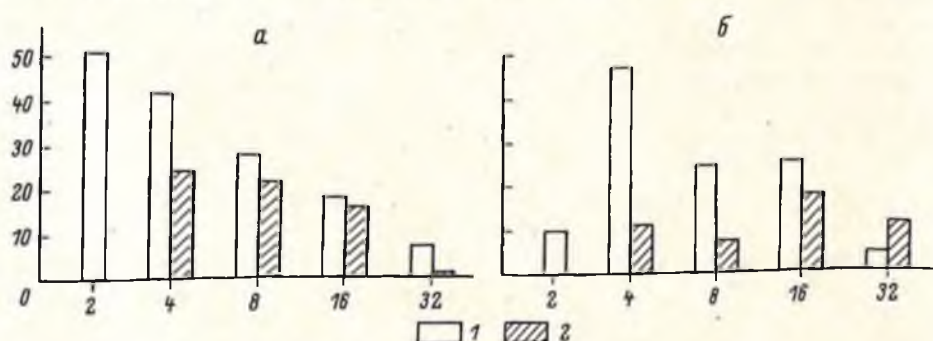


Рис. 31. Содержание телец Барра в ядрах различной степени плоидности в клетках трофобласта соединительной зоны плаценты крысы.
Сутки развития: а — 13-е, б — 14-е. 1 — ядра с одним тельцем Барра, 2 — ядра с двумя и более тельцами Барра. По оси абсцисс — степень плоидности, по оси ординат — число ядер.

Отличительные черты политениии в гигантских клетках трофобласта. Характеристика неклассической формы политениии

Изучение структуры ядер в гигантских клетках трофобласта грызунов позволяет говорить о политенной природе хромосом. Следует подчеркнуть, что исследовать политенные хромосомы трофобласта млекопитающих по ряду причин значительно труднее, чем у *Diptera*, тем не менее они обнаруживают почти все признаки, свойственные классическим политенным хромосомам, но эти признаки выражены в меньшей степени, а иногда не проявляются. В случае трофобласта из-за трудности идентификации отдельных хромосом на давленных препаратах можно лишь предположительно говорить о соматической конъюгации гомологов (Зыбина, 1961; Зыбина, Тихомирова, 1963). В трофобласте мыши Барлоу и Шерман (Barlow, Sherman, 1974) не смогли идентифицировать пучки хромосом. Поэтому они подсчитывали число плотных хромоцентров в диплоидных и высокополиплоидных клетках и нашли, что оно примерно равно диплоидному числу хромосом. Сноу и Ансел (Snow, Ansell, 1974) искусственно вызывали в ядрах трофобласта мыши конденсацию хроматина (при воздействии актиномицином D) и образование длинных хромосомоподобных телец, число которых в ходе полиплоидизации ядра не менялось и примерно соответствовало диплоидному набору хромосом. На основании имеющихся данных можно предполагать, что при политенизации хромосом у млекопитающих соматическая конъюгация родительских гомологов не происходит. Дальнейшее накопление фактов по идентификации политенных хромосом позволит уточнить этот вопрос.

При сравнении растущих ядер в клетках трофобласта белой крысы, находящихся на последовательных стадиях политенизации, видно постепенное утолщение хромосомных пучков и значительное увеличение их диаметра по сравнению с метафазными хромосомами. Как и в клетках слюнных желез *Diptera*, в трофобласте грызунов политенные хромосомы формируются в процессе прохождения ряда последовательных циклов редупликации ДНК, в результате которых ядра становятся высокоэндополиплоидными: степень полиплоидии в клетках трофобласта грызунов доходит до 512—4096с (Зыбина, 1963а; Barlow, Sherman, 1972; Nagl, 1972b; Зыбина и др., 1973, 1975а, 1975б), а уровень плоидности ядер слюнных желез различных видов *Diptera* составляет от 1000—2000с (Petit et al., 1967; Rash, 1970, и др.) до 16 000—30 000с (Beermann, 1962; Валеева, Кикнадзе, 1971). Политенные хромосомы обнаруживаются в ядрах гигантских клеток трофобласта на определенном этапе онтогенеза клетки, после достижения высокой степени эндополиплоидии (свыше 32с). В этом отношении ситуация сходна с наблюдаемой у *Chironomidae*, у которых формирование политенных хромосом происходит в высокополиплоидных ядрах — 64с (Кикнадзе, 1972).

Характерная особенность политенных хромосом *Diptera* состоит в ослаблении способности к нормальному митотическому циклу спирализации и деспирализации. Политенные хромосомы по сравнению с обычными метафазными деконденсированы и постоянно находятся в состоянии интерфазы. Этим бывает обусловлена значительно большая длина политенных хромосом по сравнению с метафазными (Кикнадзе, 1972; Pearson, 1974b). В тех случаях, когда в ядре гигантской клетки трофобласта удается идентифицировать политенные хромосомы, видно, что их длина во много раз превышает длину метафазных. По мере эндополиплоидизации ядра длина хромосомных пучков увеличивается.

В гигантских хромосомах у трех из четырех изученных видов грызунов были обнаружены диски; таким образом, и по этому признаку имеется сходство с политенными хромосомами *Diptera*. Но в отличие от последних диски в хромосомах грызунов выявляются преимущественно в районе ядрышкового организатора у ядрышкообразующих хромосом. В гигантских хромосомах трофобласта крысы наблюдались картины формирования крупных пуффов. Однако в связи с особенностями строения политенных хромосом грызунов изучать пуффы довольно сложно.

Еще одной особенностью политенных ядер *Diptera* является то, что ядрышки и ядерная оболочка сохраняются на протяжении всего клеточного цикла

(Geitler, 1953; Pearson, 1974b, и др.). В клетках трофобласта грызунов в ходе всего цикла эндоредупликации ядрышко и ядерная оболочка также не исчезают.

До сих пор речь шла о сходстве политенных хромосом млекопитающих и *Diptera*, однако следует обратить внимание на их различия. Характерной особенностью гигантских хромосом трофобласта является их лабильность, непостоянный характер выявления политении в цикле редупликации ДНК. При изучении политенных хромосом грызунов — крысы, кролика, мыши, серой полевки — всегда обнаруживаются две стадии в цикле политенного ядра, которые отличаются по степени выявления политенных хромосом, что, вероятно, связано с репликацией ДНК (Зыбина, 1961, 1970, 1977; Зыбина, Тихомирова, 1963; Зыбина и др., 1973, 1975а, 1975б; Зыбина, Черноградская, 1976).

Трудность обнаружения политенных хромосом млекопитающих объясняется также и тем, что они отчетливо видны лишь в течение определенного, весьма короткого периода в ходе дифференцировки гигантских клеток трофобласта, после которого эти хромосомы перестают выявляться. В этом и состоит вторая особенность политении хромосом млекопитающих: обнаружение политении в онтогенезе клетки имеет временный характер. Так, например, в гигантских клетках трофобласта крысы политенные хромосомы видны на 11—15-е сут, у кролика — на 12—14-е, у мыши на 10—11-е, а в трофобласте серой полевки — лишь на 9-е сут.

Политенные хромосомы разных видов грызунов отличаются по морфологическим признакам, которые в свою очередь зависят от степени конденсации хромонем и их притяжения друг к другу. Наиболее отчетливо политенные хромосомы выявляются в трофобласте мыши, где они представляют собой пучки хромонем, соединенных друг с другом в области массивного блока гетерохроматина. В эухроматических районах столь тесной связи между хромонемами не наблюдается. В трофобласте крысы структура политенных хромосом также видна довольно отчетливо, иногда можно наблюдать диски. В гигантских клетках трофобласта кролика степень связи хромонем в пучках более низкая, чем у мыши и крысы, вследствие чего тесное присоединение хромонем друг к другу обнаруживается главным образом в ядрышкообразующих хромосомах. У полевки же конденсированные хромонемы соединяются в довольно рыхлые клубки, в которых пучковое строение хромосом не удается различить даже в районе ядрышкового организатора.

Различия политенной структуры состоят и в том, что в ядрах клеток трофобласта изученных видов грызунов степень обнаружения телец Барра неодинакова. Так, в ядрах клеток трофобласта мыши отчетливо выявляются крупные блоки гетерохроматина, а тельца Барра обнаружить не удастся. У крысы и кролика тельца Барра присутствуют в течение всего цикла ядра, однако на стадии *G* они встречаются чаще, а у полевки значительная часть конденсированного хроматина ядра сосредоточена в тельцах Барра. Создается впечатление, что связь хромонем в политенных хромосомах осуществляется при участии гетерохроматиновых блоков; поэтому наименьшая степень их взаимного соединения наблюдается у полевки, где аутосомы содержат не-большое количество гетерохроматина. Напротив, наибольшая степень связывания хромонем наблюдается в трофобласте мыши, где можно видеть большое количество хромосомных центров, особенно в районах ядрышкового организатора.

Признаки политении в ядрах гигантских клеток трофобласта очевидны. Тем не менее, как мы видели, политенные хромосомы в трофобласте значительно отличаются от классических политенных хромосом, поэтому их можно называть «неклассическими политенными хромосомами». В связи с накоплением большого количества данных о встречаемости политении в растительном и животном мире представляется интересным обсудить, насколько особенности неклассической политении у грызунов являются общими для всех случаев образования политенных хромосом.

Особый интерес для сравнения с политенными хромосомами млекопитающих представляют гигантские хромосомы растений (*Rhiesenchromosomen*), детально изученные Гейтлером (Geitler, 1953) и его последователями — Чермак-Восс (Tschermak-Woess, 1956, 1971, 1973) и Наглем (Nagl, 1962a, 1962b, 1970d, 1978, 1981).

Как и в трофобласте млекопитающих, политенные хромосомы у большинства изученных растений в ядрах гигантских клеток обнаруживаются не всегда — возможность их выявления в ядре ограничена лишь определенными временными периодами или физиологическими состояниями клеток. Однако здесь, в отличие от трофобласта, далеко еще не всегда понятно, от чего зависит присутствие политенных хромосом. Нагль (Nagl, 1981) отмечает, что иногда в одной и той же ткани ядра имеют разную структуру (см. рис. 11); однако пока не понятны ни функциональное значение таких различий, ни роль факторов окружающей среды (питание, температура и др.), приводящих к ним. У растений обнаружена следующая основная закономерность: наиболее часто видимые политенные хромосомы образуются у тех видов, у которых в хромосомном наборе имеются крупные блоки гетерохроматина (например, у погремка *Rhinanthus* и настурции *Tropaeolum*), эти блоки в ходе политенизации вследствие слипания способствуют тесному присоединению хромомем (Nagl, 1981).

Размах вариабельности структур политенных хромосом у растений также очень велик. Так, у фасоли они в высшей степени лабильны по своей морфологии (Nagl, 1981), что находится в зависимости от ряда факторов внешней среды (температура, длительность светового дня, действие различных химических агентов). Еще одним признаком, объединяющим неклассические политенные хромосомы, является то, что присоединение хромомем друг к другу наблюдается не по всей длине хромосомы, а на большем или меньшем протяжении. Эта протяженность может также изменяться в цикле репликации политенного ядра (как показано у грызунов) или же под действием различных факторов (у растений).

Из литературы известно, что не во всех случаях формирование политенных хромосом у покрытосеменных растений сопровождается конъюгацией парных гомологов. Так, в тканях зародышевого мешка у покрытосеменных растений конъюгация хромосом происходит не всегда и число их бывает равно диплоидному или триплоидному, что, однако, не является препятствием, чтобы рассматривать их как политенные (Tschermak-Woess, 1957, 1963, 1971; Nagl, 1962b, 1974, 1978). У млекопитающих, по-видимому, также нельзя говорить о конъюгации гомологов.

По всей вероятности, силы связывания хромомем в политенных хромосомах у покрытосеменных и грызунов выражены в меньшей степени, чем у *Diptera*. Возможно, этим обусловлено то, что в гигантских хромосомах растений и грызунов тесное соединение хромомем ограничивается определенной частью хромосомы (Зыбина, 1970, 1977; Tschermak-Woess, 1971, 1973; Pearson, 1974b). В политенных хромосомах как у растений, так и у грызунов часто отсутствуют отчетливые диски. Можно полагать, что формирование отчетливого дискового рисунка не происходит из-за того, что соответствующие друг другу хромомеры соседних хромомем не присоединяются плотно друг к другу при образовании диска (Зыбина и др., 1973, 1975b; Nagl, 1974, 1976a, 1978, 1981; Зыбина, 1977), а также не располагаются точно друг над другом (см. рис. 8, в, г).

Структура гигантских хромосом в ядрах клеток гаустория ленца *Thesium alpinus*, пожалуй, более всего напоминает политенные хромосомы в трофобласте мыши. В обоих случаях ядрышкообразующие хромосомы в области вхождения в ядрышко содержат крупные гетерохроматиновые блоки, тогда как в эухроматиновых районах хромомемы веерообразно отходят друг от друга. На значительно большем расстоянии наблюдается присоединение хромомем в гигантских хромосомах клеток гаустория у *Codonopsis clematida* (Erbrich, 1965; Tschermak-Woess, 1973).

Сопоставление литературных данных в случаях классической и неклассической политении показало, что различия между ними не являются абсолютными. Многие черты, характерные для политенных хромосом млекопитающих и растений: возможное отсутствие соматической конъюгации гомологов (Snow, Ansell, 1974; Tschermak-Woess, 1973; Nagl, 1978), неполное соединение сестринских хромомем по длине хромосомы, отсутствие четкого дискового рисунка (Tschermak-Woess, 1956; Nagl, 1962b, 1972a, 1978; Зыбина, 1961, 1977; Pearson, 1974b) и временный характер соединения хромомем в политенной хромосоме —

присущи также политенным хромосомам некоторых видов *Diptera*: Так, например, у галлицы *Harmandia laevi* (Cecidomyiidae) обнаружено отсутствие конъюгации гомологичных политенных хромосом в клетках слюнных желез (Жимулев, Лычев, 1972). Эти хромосомы не всегда обнаруживают тесное соединение сестринских хромомов друг с другом; они могут претерпевать глубокие структурные изменения во время дифференцировки клеток, при этом происходит расщепление хромосом на отдельные хромомемы (White, 1948; Matuszewski, 1965; Henderson, 1967a; Жимулев, Лычев, 1972).

Как показали исследования Пирсона (Pearson, 1974a, 1974b), в ядрах эпидермиса брюшка личинки мясной мухи *Calliphora erythrocephala* и в ядрах энцитов политенные хромосомы на определенном этапе онтогенеза разбеждаются на олиготенные фибриллы, которые образуют в карноплазме сетчатую структуру и объединяются лишь на коротких участках, так что не удается идентифицировать отдельные хромосомы на всем их протяжении.

Заслуживает внимания тот факт, что даже политенные хромосомы классического типа из слюнных желез дрозофилы под действием ряда факторов могут утрачивать типичную дисковую структуру, претерпевая, по-видимому, разрыхление, а также что в некоторых случаях эти хромосомы не обнаруживают конъюгацию гомологов (Жимулев, Беляева, 1976; Nagl, 1978).

В последнее время появились данные Н. Б. Ильинской и Г. В. Селивановой (1982) о том, что структура классических политенных хромосом тоже может изменяться в цикле репликации ДНК. У личинки *Chironomus plumosus* (мотыль) наличие четких классов содержания ДНК наблюдается лишь для ядер с очень плотным расположением в них политенных хромосом, в то время как большая часть промежуточных значений приходится на ядра с более рыхлым расположением хромосом. Авторы объясняют такое явление тем, что промежуточные значения содержания ДНК обычно соответствуют S-фазе; в это время хромосомы несколько сильнее деконденсированы и, вероятно, более рыхло располагаются в ядре. Напротив, ядра с более конденсированными и, следовательно, плотнее лежащими хромосомами соответствуют G-фазе.

Интересно, что подобный подход позволил установить само существование цикла репликации хромосом при классической политении. Используя сочетание методов автордиографии и цитоспектрофотометрии при изучении динамики синтеза ДНК в индивидуальных клетках слюнной железы личинок *Chironomus thummi*, удалось выявить дискретные циклы редупликации ДНК в клетках с политенными хромосомами (Гундерина и др., 1984a). Поскольку клетки в слюнной железе не представляют собой синхронную в отношении клеточного цикла популяцию, динамику синтеза ДНК изучали отдельно в разных типах клеток, различающихся по расположению в слюнной железе; таким образом, удалось получить частично синхронизированную популяцию. Использование такого подхода впервые возвило доказать, что умножение ДНК при политенизации ядер слюнных желез *Diptera* происходит непрерывно, а лишь на одной из фаз клеточного цикла — S-фазе. При этом удалось также определить продолжительность периода синтеза ДНК в клетках слюнных желез личинок *Ch. thummi* в начале четвертого возраста; было показано, что продолжительность S-периода клеток разного уровня плоидности различна: для клеток уровня плоидности $2^{10}c$ и $2^{11}c$ она составляет соответственно 17 и 22 ч (Гундерина и др., 1984b).

В ряде случаев силы, связывающие хромомемы друг с другом, могут оказаться настолько слабыми, что структуры, похожие на политенные хромосомы, вообще не выявляются. При этом о политении можно судить по многократным репликациям ДНК в ядре без прохождения митозов. Примерами такой «скрытой» политении могут служить гигантские нейроны моллюсков, клетки пищеводной железы аскариды и некоторые другие (Бродский, Урываева, 1974, 1981; Анисимов, 1974).

На основании имеющихся в настоящее время данных о политении В. Я. Бродским и И. В. Урываевой (1981) было выделено три типа политенных клеток в зависимости от структуры интерфазного ядра: 1) классический тип политении, характерный для *Drosophilidae*, *Chironomidae*, *Sciaridae* и других *Diptera*; 2) политения с неполным проявлением признаков политении —

в трофобласте млекопитающих, трофоцитах насекомых, во вспомогательных питающих клетках зародышевого мешка покрытосеменных растений; 3) так называемая скрытая политения — случаи, когда отсутствуют видимые признаки политении — в гигантских нейронах моллюсков; обычно такие ядра не называют политенными, но умножение генома в них осуществляется, по-видимому, путем эндорепродукции.

Таким образом, в последние годы благодаря накоплению большого количества новых фактов понятие политении значительно расширилось, изменилось его содержание: если ранее это явление в основном рассматривалось как один из способов организации хромосом, то теперь вдобавок к этому политению можно считать особым сокращенным вариантом клеточного цикла, морфологическим проявлением которого является тот или иной способ укладки соединенных сестринских хромомов в интерфазном ядре. В настоящее время уже известно, что степень присоединения хромомов друг к другу может значительно изменяться под влиянием тех или иных факторов, а также в разные периоды жизненного цикла клетки и организма. Дальнейшие исследования, вероятно, покажут, чем обусловлены такие изменения в структуре ядра и в чем состоит их биологическое значение.

Дополнительные доказательства политении в трофобласте млекопитающих (из истории вопроса)

В тот период, когда проблема роста гигантских клеток трофобласта привлекла внимание многих исследователей, данные об их политенной природе подверглись тщательной проверке. В начале 70-х годов выдвигались предположения о разных механизмах увеличения количества ДНК в ядрах гигантских клеток трофобласта. Первое предположение — об эндоредупликации ДНК и формировании политенных хромосом в высокополиплоидных ядрах и о возможной последующей фрагментации части гигантских ядер на большое число мелких, со значительно меньшей степенью плоидности — было выдвинуто еще в начале 60-х годов (Зыбина, 1961, 1963а, 1963б; Зыбина, Тихомирова, 1963). Позднее появились и другие предположения об образовании гигантских клеток трофобласта: 1) путем слияния клеток между собой (Saccotani et al., 1967; Avery, Hunt, 1969); 2) путем слияния материнских клеток (эпителиальных, децидуальных) и их ядер с клетками трофобласта (Galassi, 1967; Avery, Hunt, 1969); 3) путем накопления ДНК в ядрах клеток трофобласта вследствие амплификации некоторых последовательностей ДНК (Sherman et al., 1972).

Первое предположение было основано на данных световой микроскопии (Зыбина, 1961; Зыбина, Тихомирова, 1963) и подтверждено результатами, полученными методами измерения объемов ядер (Зыбина, Тихомирова, 1963), цитоспектрофотометрии (Зыбина, 1963а, 1970; Зыбина, Мосьян, 1967; Barlow, Sherman, 1972; Nagl, 1972b) и автордиографии (Atlas et al., 1960; Зыбина, 1963б; Андреева, 1964; Jollie, 1964; Заварзин, 1967). Второе основывалось на том, что трофобласт в плаценте некоторых видов млекопитающих имеет синцитиальное строение (Larsen, 1961). Для доказательства третьего предположения была проведена серия опытов по трансплантации бластоцист, взятых от немеченых животных-доноров, в рог матки или под капсулу почки реципиента, которому предварительно вводили ^3H -тимидин (Galassi, 1967; Avery, Hunt, 1969). Обнаружив на 10-е сут развития зародыша включение ^3H -тимидина в ядре гигантских клеток трофобласта (в клетках яйцевого цилиндра метка отсутствовала), Гэлэси (Galassi, 1967) сделал вывод о реутилизации ядрами этих клеток нуклеотидов меченой ДНК. По мнению автора, это происходит в результате образования симплазмы, в формировании которой участвуют не только клетки трофобласта, но и захваченные трофобластом ядра эпителия.

В электронно-микроскопическом исследовании самых начальных этапов имплантации бластоцисты кролика, проведенном Ларсеном (Larsen, 1961), описано слияние синцитиального эпителия и синцитиального трофобласта, в результате которого ядра материнских клеток и клеток трофобласта оказываются в общей цитоплазме. Эти данные приводятся Гэлэси как дополнительное подтверждение возможности слияния эмбриональных и материнских ядер.

К такому же заключению пришли Авери и Хант (Avery, Hunt, 1969), которые трансплантировали зародыши мыши под капсулу почки и наблюдали в гигантских клетках трофобласта фагоцитированные непереваренные небольшие ядра клеток ткани хозяина. Неправильная трактовка картин фагоцитоза привела этих авторов к ложному представлению о природе роста гигантских ядер в клетках трофобласта — путем слияния ядер материнских тканей с ядрами клеток трофобласта. Электронно-микроскопические исследования на этих же объектах — крысе и мыши — не обнаружили слияния клеток трофобласта с материнскими клетками (Potts, 1968; Tachi et al., 1970, и др.). Потребовались специальные исследования, поставленные на химерных мышах с применением изозимного анализа, которые показали, что ядра и клетки трофобласта не сливаются между собой, невозможно также слияние ядер клеток трофобласта с ядрами материнских клеток и образование между ними гетерокарионов (Gearhart, Mintz, 1972; Charman et al., 1972; Hillman et al., 1972). Были приготовлены химерные зародыши, полученные из бластомеров двух различных линий мышей, каждая из которых представляла электрофоретический вариант энзима глюкозофосфатизомеразы (GPI-IA и GPI-IB). Если бы в клетках трофобласта имело место слияние ядер, то в них происходило бы образование димерных молекул GPI-IA/GPI-IA, GPI-IB/GPI-IB, а также гетеродимера GPI-IB/GPI-IA. Для того чтобы определить, происходит ли слияние между различными клетками трофобласта, аллофенные бластоцисты мыши были перенесены в матку мыши чистой линии GPI-IA/GPI-IA. Однако при электрофоретическом анализе оказалось, что клетки содержали оба варианта энзима GPI, но гетеродимерный вариант отсутствовал. Это свидетельствует о том, что слияние ядер в гигантских клетках трофобласта не происходит.

Чтобы выяснить, происходит ли слияние клеток и ядер трофобласта с захваченными трофобластом эпителиальными и децидуальными клетками эндометрия (т. е. с клетками материнского происхождения), бластоцисты линии GPI-IA/GPI-IA трансплантировали в матку реципиента GPI-IB/GPI-IB. В клетках трофобласта имплантировавшегося зародыша присутствие гетеродимера GPI-IA/GPI-IB обнаружить не удалось. Следовательно, говорить о слиянии ядер клеток трофобласта с ядрами фагоцитированных материнских клеток нет никаких оснований.

Шерман с соавторами (Sherman et al., 1972), изучая кинетику реассоциации фрагментов ДНК, показал, что в ядрах гигантских клеток трофобласта мыши не наблюдается амплификации гетерохроматических участков хромосом. Подобный факт является, по мнению этих авторов, дополнительным подтверждением погеномной репликации ДНК в ядрах гигантских клеток трофобласта.

Таким образом, гипотеза относительно накопления значительных количеств ДНК в ядрах гигантских клеток трофобласта путем захвата материнских ядер и слияния ядер клеток трофобласта друг с другом и с материнскими ядрами не получила подтверждения, как не подтвердилось и предположение о возможной амплификации ДНК в гетерохроматических районах полигенных хромосом в трофобласте мыши. Исследователями американской, английской и австрийской школ цитологов и цитогенетиков было признано, что эндоредупликация всего генома, приводящая к возникновению высокополиплоидных ядер, и является тем механизмом, который обеспечивает аккумуляцию ДНК в ядрах гигантских клеток трофобласта (Chapman et al., 1973; Gearhart, Mintz, 1972; Nagl, 1972b, 1978; Sherman et al., 1972; Graham, 1973). Тщательное цитологическое изучение процессов взаимодействия между имплантирующимся зародышем и клетками слизистой оболочки матки, детальное прослеживание динамики фагоцитарной деятельности в клетках трофобласта при их дифференцировке, четкое разграничение между картинами фагоцитоза материнских клеток и ядер и фрагментацией исходного гигантского ядра на множество мелких ядерных фрагментов с последующим образованием многоядерной клетки позволили избежать ошибочных предположений (см. выше) о механизме полиплоидизации клеток трофобласта и децидуальных клеток (Зыбина, 1958а; Зыбина, 1963а, 1963б, 1981в, 1983; Зыбина, Тихомирова, 1963).

УЛЬТРАСТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ПОЛИТЕННЫХ ХРОМОСОМ
В КЛЕТКАХ ТРОФОБЛАСТА МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Результаты электронно-микроскопического исследования подтверждают данные светооптических наблюдений, свидетельствующие о том, что в ядрах гигантских клеток трофобласта некоторых грызунов имеются политенные хромосомы (Зыбина, 1970, 1977, 1981; Pearson, 1974b). Как и при светооптическом наблюдении, на электронограммах в клетках трофобласта крысы обнаружено два типа ядер: 1) ядра с деконденсированным хроматином, где не выявляются структуры, характерные для политенных хромосом; 2) ядра с участками конденсированного хроматина, в которых имеются структуры, сходные с дисками и пuffedми политенных хромосом (Зыбина, 1980в, 1980г).

В ядрах первого типа на 12, 13 и 14-е сут развития плаценты тонкие нити хроматина довольно равномерно рассеяны по карิโอплазме (табл. XIX, а), в отличие от ядер второго типа слой пристеночного хроматина очень слабо выражен. В интерхроматиновых пространствах видны многочисленные гранулы диаметром 20—30 нм или небольшие их скопления (табл. XIX, б). Хроматиновые нити распределены в ядрах не беспорядочно, и на некоторых срезах выявляется довольно четкая ориентация хроматиновых нитей в одном определенном направлении (табл. XIX, б). В карิโอплазме изредка встречаются перихроматиновые гранулы диаметром 40 нм, иногда окруженные светлым «двориком» (табл. XIX, б). В ядрах с деконденсированным хроматином довольно редко обнаруживаются небольшие ядрышкоподобные образования, диаметр которых не превышает 0.5 мкм. Они представляют собой тельца округлой или овальной формы и состоят из плотно упакованных фибрилл диаметром 8—10 нм и расположенных между ними гранул примерно той же величины.

В ядрах второго типа имеются более или менее крупные участки сильно конденсированного хроматина (табл. XX). Ядрышко окружено слоем конденсированного околядрышкового хроматина; небольшие скопления пристеночного хроматина наблюдаются под внутренней ядерной мембраной (табл. XX, а). Если в карิโอплазме эти скопления рассеяны довольно беспорядочно, то вблизи ядрышка расположение их является более упорядоченным: часто обнаруживается несколько крупных глыбок хроматина удлинённой формы, которые располагаются параллельно друг к другу и к слою перинуклеолярного хроматина (табл. XX, а). По всей вероятности, такие ряды глыбок конденсированного хроматина представляют собой диски, которые обнаруживаются при светооптическом исследовании (Зыбина, 1970, 1977). По своему взаимному расположению, величине и ультраструктуре они сходны с дисками политенных хромосом *Diptera*, наблюдаемыми на электронно-микроскопическом уровне, однако параллельное расположение крупных хроматиновых глыбок в трофобласте не прослеживается на значительном расстоянии по длине хромосомы, как это наблюдается у *Diptera* (Перов и др., 1975). Толщина таких прерывистых дисков в ядрах трофобласта составляет 0.2—0.3 мкм.

Тонкие хроматиновые фибриллы, находящиеся в пространствах между дисками, обнаруживают довольно четкую ориентацию в направлении от одного диска к другому или от перинуклеолярного хроматина к ближайшему из параллельно лежащих дисков (табл. XX, а; см. также табл. XXIII, а). Такие структуры, состоящие из ориентированных нитей, связанных с прилежащими участками конденсированного хроматина, можно, вероятно, сравнивать с пuffedми политенных хромосом *Diptera*. В отдельных пuffedовых районах накапливаются многочисленные расположенные рядами гранулы диаметром 20—30 нм.

В этом отношении ультраструктура пуффов полиденных хромосом в ядрах трофобласта сходна с таковой в слюнных железах *Diptera* (Gabrusewycz-Garcia, Garcia, 1974; Перов и др., 1975, 1976). В ядрах гигантских клеток трофобласта в месте образования пуффа крупные скопления конденсированного хроматина, составляющие диск, разделяются на более мелкие глыбки, по-видимому вследствие разъединения единого пучка хромомер на несколько отдельных пучков.

Дифференциальная деконденсация отдельных участков диска классических полиденных хромосом протекает сходным образом при формировании пуффов в полиденных хромосомах слюнных желез *Chironomus thummi*. По мере развития пуффа не все хромомеры в диске одновременно включаются в пуффинг, часть их может оставаться в неактивном состоянии и подключаться по мере активации пуффа (Кикнадзе и др., 1977). Вероятно, за счет включения в пуффинг разного числа хромомер может регулироваться степень активности пуффов. Следует отметить, что и в классических полиденных хромосомах ультраструктура различных пуффов может отличаться в одном и том же ядре по соотношению фибриллярного и гранулярного материала. Подобные отличия характерны для некоторых метаморфозных пуффов у *Ch. thummi* (Кикнадзе и др., 1977).

На 12—14-е сут развития плаценты крысы наряду с ядрами, в которых выявляются полиденные хромосомы, встречаются ядра с менее конденсированным хроматином. Возможно, они соответствуют переходным стадиям в процессах конденсации и деконденсации хромосом. Эта стадия характеризуется высокой активностью в выработке ядрышкоподобных телец и перихроматиновых гранул; ядрышкоподобные тельца более крупные (1—1.5 мкм), чем на стадии сетчатого ядра. Они составлены множеством гранул диаметром около 20 нм, иногда расположенных рядами, к которым примыкают тончайшие нити хроматина; форма телец близка к округлой, неправильных очертаний (табл. XX, б). Обращает на себя внимание, что такие гранулярно-фибриллярные тельца всегда находятся в контакте с глыбками конденсированного хроматина. Они по размерам и ультраструктуре сильно отличаются от ядрышка и, вероятно, возникают на других участках хромосом.

В ядре присутствуют массивные скопления конденсированного хроматина — и под ядерной оболочкой, и свободно в кариоплазме (табл. XX, в). Внутри этих скоплений находятся многочисленные перихроматиновые гранулы диаметром 40—50 нм, каждая из которых окружена светлым «двориком». Такие массы конденсированного хроматина по своей тонкой структуре несколько напоминают ячеистые структуры, найденные в полиплоидных ядрах трофоцитов жуков чернотелок *Blaps lethifera* (Грузова, 1979). Как показали гистохимические исследования, проведенные М. Н. Грузовой на ультраструктурном уровне, перихроматиновые гранулы содержат РНК. Они располагаются в массе хроматина, также содержащей РНК. В ядрах гигантских клеток трофобласта в некоторых местах скопления конденсированного хроматина приобретают несколько иное, губчатое, строение и по внешнему виду сходны с хроматином теломерных районов и ядрышкового организатора полиденных хромосом в ядрах слюнных желез личинок *Ch. thummi* (Перов и др., 1976). В трофобласте, как и у хирономид, они часто располагаются вблизи ядрышка.

На 17-е сут развития плаценты, когда пучки хромосом перестают выявляться и синтез ДНК почти полностью прекращается, ультраструктура ядер заметно изменяется по сравнению с более ранними стадиями. Однако и в этот период присутствуют две категории ядер, которые отличаются друг от друга по состоянию хроматина в ядре и по морфологии предполагаемых продуктов активности хромосом: одни из них состоят из деконденсированного хроматина, в других хроматин находится в частично конденсированном состоянии. В ядрах с деконденсированным и с частично конденсированным хроматином присутствует большое количество гранул и ядрышкоподобных образований весьма разнообразных по своей морфологии (Зыбина, 1980г). В первом случае, так же как и на более ранних стадиях развития плаценты, кариоплазма заполнена тонкой сетью хроматиновых фибрилл с расположенными между ними интерхроматиновыми гранулами диаметром 20—30 нм (табл. XIX, в);

глыбки пристеночного хроматина не обнаруживаются. Изредка в карноплазме встречаются обширные светлые пространства, заполненные крупными электронно-плотными гранулами диаметром 40—60 нм, расположенными примерно на одинаковом расстоянии друг от друга. В некоторых участках гранулы образуют продольные ряды; по величине они сходны с перихроматиновыми гранулами, но имеют несколько меньшую электронную плотность. В отличие от последних упомянутые гранулы имеют более разрыхленную структуру и могут быть связаны с тонкими фибриллами неизвестной природы, в то время как большие скопления перихроматиновых гранул оказываются заключенными в массу конденсированного хроматина (сравни табл. XX, в и табл. XIX, г).

В ядрах с деконденсированным хроматином на 16—17-е сут развития содержится большое количество интерхроматиновых гранул (единичные перихроматиновые гранулы встречаются довольно редко), а также некоторое количество гранулярно-фибриллярных (с мелкими гранулами) и грубофибриллярных ядрышкоподобных телец. Гранулярно-фибриллярные ядрышкоподобные тельца округлой, овальной или не совсем правильной формы (диаметром до 1.6 мкм) состоят из гранул диаметром 15—20 нм, расположенных внутри тонкофибриллярного материала. Грубофибриллярные тельца состоят из толстых фибрилл диаметром до 20 нм и расположенных между ними гранул примерно того же диаметра.

На этой стадии развития в ядрах с частично конденсированным хроматином наблюдается более широкое разнообразие ядрышкоподобных телец, чем в предшествующий период или же на стадии сетчатого ядра. В ядрах с частично конденсированным хроматином встречаются многочисленные интерхроматиновые гранулы, грубофибриллярные ядрышкоподобные тельца, а также многочисленные гранулярно-фибриллярные округлые ядрышкоподобные тельца или обширные, вытянутые в длину скопления мелких гранул (табл. XXI, а, б). Для этой стадии характерно также появление тонкофибриллярных округлых ядрышкоподобных телец (диаметр до 2 мкм), состоящих из плотно упакованных тонких нитей (табл. XXV, а). Формирование таких телец происходит и на хромосомах ламповых щеток в ооцитах мыши (Chouinard, 1975a). В то же время появляются гранулярно-фибриллярные тельца (табл. XXI, а, в; см. также табл. XXVI, а) с очень крупными гранулами (диаметр 40—60 нм). По внешнему виду эти тельца несколько напоминают «клубочковые», или «спиральные», тельца (coiled bodies), которые описаны в ооцитах мыши (Chouinard, 1975a) и золотистого хомячка (Зыбина, Грищенко, 1977). Перихроматиновые гранулы встречаются как единичные в участках плотно упакованного хроматина, так и в виде больших скоплений в обширных массах несколько разрыхленного хроматина.

Сравнительное изучение предполагаемых продуктов активности хромосом в онтогенезе клеток трофобласта показало, что в период терминальной дифференцировки появляются те продукты, которые не встречаются на более ранних стадиях развития. Так, лишь на 16—17-е сут развития плаценты в ядрах клеток трофобласта обнаружены тонкофибриллярные ядрышкоподобные тельца и образования типа «спиральных» телец, причем только в ядрах с частично структурированным хроматином. Уникальным продуктом являются скопления крупных гранул диаметром 40—60 нм, встречающиеся в ядрах с деконденсированным хроматином.

В ядрах клеток трофобласта с частично конденсированным хроматином появляются так называемые ядерные тельца (nuclear bodies), имеющие диаметр 0.5—1.5 мкм. Они состоят из наружного слоя концентрически расположенных фибрилл, окружающего скопления гранул большего или меньшего диаметра (табл. XXI, г). Такие тельца встречаются в различных соматических, активно функционирующих клетках (Monpeyron, Bernhard, 1969; Recher et al., 1972; Smetana, 1974; Грузова, 1977). Число их увеличивается при патологических состояниях клеток, например при вирусной инфекции, канцерогенезе. Сложные ядерные тельца имеют белковую капсулу и включают в себе различный фибриллярный и гранулярный материал, ДНП и РНП, гликоген, липиды и др.

Вопрос о происхождении ядерных телец в литературе является дискуссионным. По мнению некоторых авторов (Dupuy-Coin, Bouteille, 1972; Bouteille et al.,

1974), они возникают из ядрышковых компонентов, так как некоторые простые фибриллярные тельца имеют сходство с фибриллярным центром ядрышка (Smetana et al., 1971). Гранулы, содержащиеся в центре гранулярных ядрышковых телец, по морфологии сходны с гранулярным компонентом ядрышка, и ядерные тельца, возможно, возникают путем отделения от массы ядрышка его части, которая мигрирует в карноплазму (Dupuy-Coin, Bouteille, 1972; Smetana, 1974, и др.).

Относительно происхождения и функционального значения ядерных телец гигантских клеток трофобласта трудно пока сказать что-либо определенное. Однако кажется маловероятным, что эти структуры происходят от компонентов ядрышка. На это указывает тот факт, что ядерные тельца впервые появляются в высокодифференцированных клетках трофобласта в тот период, когда гранулярный компонент ядрышка присутствует в незначительном количестве, тогда как ядерные тельца содержат многочисленные гранулы. Ядерные тельца в трофобласте обычно контактируют с хроматиновым материалом и довольно часто обнаруживаются неподалеку от ядрышкоподобных образований типа «coiled bodies». Вместе с тем значение такой закономерности в расположении ядерных органелл в трофобласте пока неясно; возможно, она является случайной.

Как на ранних, так и на поздних стадиях онтогенеза клеток трофобласта обнаружено несколько типов ядрышкоподобных телец: два типа фибриллярных (тонко- и грубофибриллярных), гранулярно-фибриллярные (диаметр гранул от 15 до 25 нм), гранулярно-фибриллярные с крупными гранулами (диаметр порядка 40—60 нм), напоминающие «coiled bodies».

Ядрышкоподобные образования (микроядрышки, ядрышкоподобные тельца, внеядрышковые тельца, белковые сферы, РНП-тельца и др.) описаны в ядрах ооцитов многих видов животных (Куликова, 1963; Романова, 1963, 1977; Кикнадзе, 1966; Зыбина, 1968, 1969, 1975а, 1975б; Chouinard, 1973, 1975а; Райкова, 1974; Грузова, 1977; Зыбина, Грищенко, 1977, и др.). Цитохимические исследования показали, что они содержат белки кислой природы и некоторое количество РНК (Зыбина, 1968; Грузова, 1971, 1977; Арронет, 1975). От типичных ядрышек ядрышкоподобные образования отличаются тем, что содержат незначительное количество РНК, не включают или включают очень слабо меченые предшественники РНК, в них отсутствуют прорибосомные гранулы (Грузова, 1977). Ядрышкоподобные тельца образуются на боковых петлях хромосом типа ламповых щеток и являются показателем высокой транскрипционной активности хромосом в этот период.

Образование микроядрышек на участках, не идентичных с районом ядрышкового организатора, описано также в соматических клетках в политенных хромосомах суспенсора фасоли (Nagl, 1970d, 1973b). Микроядрышки возникают либо на гетерохроматических, либо эухроматических сегментах политенных хромосом. Как уже говорилось, уникальной особенностью гигантских хромосом фасоли *Phaseolus coccineus* является способность обрабатывать боковые петли, как на хромосомах типа ламповых щеток. Петли, отходящие от довольно конденсированных участков политенных хромосом, возникают у растений в результате воздействия температурного шока или изменения фотопериода (Avanzi et al., 1970; Nagl, 1970d, 1973a, 1974), а также химических агентов, например в клетках эндосперма при действии гиббереллиновой кислоты (Nagl, 1971). Следует отметить, что боковые петли появляются, по мнению Нагля, лишь на участках поверхностно расположенных хромонем политенной хромосомы (см. рис. 9, а; 27), чем они существенно отличаются от пuffed-районов: хромомеры деспирализуются и образуют петли, на которых синтезируются продукты деятельности хромосомы; последние агрегируют между собой и образуют ядрышкоподобное тельце, которое впоследствии может отделиться от хромосомы (Nagl, 1970d).

Политенные хромосомы суспенсора фасоли обнаруживают больше сходство с политенными хромосомами клеток трофобласта грызунов (Зыбина, 1970; Nagl, 1973d). Поэтому неудивительно, что образование боковых петель было выявлено в отдельных участках политенных хромосом при светооптическом изучении трофобласта крысы и мыши. Боковые петли отходят латерально, как

правило, от небольших гетерохроматических участков хромосомы, либо от крупных блоков гетерохроматина (Зыбина, 1977).

По-видимому, наблюдаемые на ультраструктурном уровне формы ядрышкоподобных образований являются продуктами генной активности полиденных хромосом, однако нет пока оснований говорить что-либо определенное относительно того, формируются ли они на структурах типа петель ламповых щеток или в участках хромосом, имеющих строение пуффов. В пользу последней точки зрения свидетельствуют данные об ультраструктуре пуффов классических полиденных хромосом. Присутствие агрегатов фибриллярного или гранулярного материала в пуффовых районах описано при электронно-микроскопическом исследовании формирования пуффов и колец Бальбиани в полиденных хромосомах слюнных желез *Chironomus thummi* (Yamamoto, 1970; Перов, Ченцов, 1971; Перов и др., 1976; Кикнадзе и др., 1977; Истомина и др., 1983).

В гигантских клетках трофобласта крысы многие ядрышкоподобные образования (гранулярно-фибриллярные с мелкими или крупными гранулами и тонкофибриллярные) по морфологии и величине напоминают ядрышкоподобные тельца, образующиеся на хромосомах типа ламповых щеток в ядрах ооцитов мыши, кролика и золотистого хомячка (Chouinard, 1973; Зыбина, 1975а, 1975б; Зыбина, Грищенко, 1977). Однако лишь одна форма скоплений гранул, по всей видимости, может быть связана как со структурами типа ламповых щеток, так и с пуффами. Это гранулярно-фибриллярные образования с гранулами диаметром 20 нм, встречающиеся в ядрах гигантских клеток трофобласта; нередко эти образования имеют неправильную, а иногда сильно вытянутую форму и нечеткие очертания, часто они располагаются среди небольших хроматиновых глыбок с более или менее плотной или рыхлой упаковкой. В таких случаях эти гранулярно-фибриллярные образования несколько напоминают фибриллярно-гранулярный материал пуффовых районов. Не исключена возможность, что подобные образования являются продуктами активности пуффовых районов полиденных хромосом.

Еще одним фактом, свидетельствующим о сходстве в строении некоторых важных в функциональном отношении локусов хромосомы, является обнаружение многочисленных светлых полостей в участках конденсированного хроматина вблизи ядрышкового организатора полиденных хромосом трофобласта (губчатые структуры) и клеток слюнных желез *Diptera* (Перов и др., 1976). Интересно, что подобные структуры в настоящее время обнаружены только в полиденных хромосомах, что, по-видимому,шний раз свидетельствует в пользу полиденной природы хромосом в трофобласте млекопитающих.

Следует отметить, что в ходе дифференцировки клеток трофобласта наблюдается цикличность изменения ультраструктуры хроматина от диффузного к частично конденсированному, которая сопровождается периодичностью появления тех или иных предполагаемых продуктов активности хромосом. Так, например, светлые зоны в кариоплазме с крупными гранулами обнаруживаются на поздних стадиях развития плаценты только в ядрах с деконденсированным хроматином, скопления перихроматиновых гранул в массах конденсированного хроматина, ядрышкоподобные тельца с крупными гранулами и сложные ядерные тельца встречаются только в ядрах с частично конденсированным хроматином.

Согласно данным автораддиографического исследования, в онтогенезе клеток трофобласта синтез РНК в хромосомах сохраняется примерно на одинаковом уровне и значительно падает в конечный период дифференцировки, на 19-е сут развития плаценты, после полного прекращения в ядре репликации ДНК (Зыбина, 1963б).

Таким образом, в течение всего периода дифференцировки клеток трофобласта сохраняются транскрипционная активность полиденных хромосом и выработка различных предполагаемых продуктов активности хромосом, причем как для разных стадий цикла эндоредупликации, так и для разных стадий онтогенеза клеток характерно образование различных по своей морфологии структур. Это, вероятно, является следствием функционирования различных локусов хромосом на разных этапах дифференцировки клеток.

ИЗМЕНЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ЯДРЫШКА И РАЙОНА ЯДРЫШКОВОГО ОРГАНИЗАТОРА В ЦИКЛЕ ЭНДОРЕПРОДУКЦИИ И В ХОДЕ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ КЛЕТКИ

Поведение ядрышка в цикле эндорепродукции

Ядрышко, как и половой хроматин, можно рассматривать в качестве своеобразного «маркера интерфазного ядра», поскольку его состояние отражает поведение ядрышкообразующих хромосом в ходе клеточного цикла (не только обычного митотического, но и в случае полиплоидизирующих митозов и эндорепродукции). Особенность ядрышка состоит еще и в том, что морфо-функциональная его характеристика в известной степени отражает общий уровень транскрипционной активности хромосом в ядре, что является одной из важнейших характеристик функционального состояния клетки.

При рассмотрении данных литературы, касающихся поведения ядрышка в ходе эндомитоза и других циклов эндорепродукции, следует отметить, что сведений в этом отношении имеется совсем немного. В случае классического эндомитоза ядрышки, по-видимому, сохраняются на протяжении всего цикла ядра, что было показано на ряде объектов (клетки стенки семенных фолликулов водомерки *Gerris lateralis* — Geitler, 1953; эпителий гонады пауков — Соколов, 1967а, 1967б; энциты мучнистого червеца — Nur, 1968; крахмалообразующие клетки клубня картофеля — Прокофьева-Бельговская, 1960). В то же время при исследовании классического эндомитоза в клетках семенных фолликулов кузнечика *Chrysocraon dispar dispar* и пустынной саранчи *Schistocerca gregaria* хорошо выраженные ядрышки не обнаруживались (Кикнадзе, Тутурова, 1970; Истомина, 1976). В железистых клетках рабочих пчел и в питающихся клетках *Drosophila melanogaster* в случае эндомитоза в ранней эндопрофазе ядрышки распадаются и появляются вновь в эндоинтерфазе. В данном случае ядрышки ведут себя так же, как и в митозе (Painter, Biesele, 1966).

При политении ядрышко обнаруживается в течение всего цикла ядра. В политенных хромосомах растений ядрышки, как правило, образуются в контакте с ядрышкообразующими хромосомами (мак — Hasitschka, 1956, погреток — Tschermak-Woess, 1957; Tschermak-Woess, Hasitschka-Jenschke, 1963). Наиболее детально морфология ядрышка и района ядрышкового организатора описана в политенных ядрах клеток суспенсора фасоли *Phaseolus coccineus* и *Ph. vulgaris*, в которых имеются четыре ядрышкообразующие хромосомы. Во время роста политенного ядра, как только политенные хромосомы становятся различимыми, единственное ядрышко приобретает неправильные очертания. В высокоэндополиплоидных клетках в ядрышке появляются выпячивания, образуются лопасти, происходит вакуолизация ядрышка, причем в некоторых вакуолях обнаруживается хроматиновый материал.

Проследивая изменения внутриядрышкового хроматина и ядрышкообразующих политенных хромосом в районах, расположенных вблизи ядрышка при различных функциональных состояниях хромосом, Нагль (Nagl, 1970d) пришел к заключению, что описанные изменения, по-видимому, являются выражением состояния пуффинга политенной хромосомы в районе вторичной перетяжки. При этом участок хромосомы, связанный с ядрышком, расщепляется на множество нитей меньшего диаметра, пронизывающих ядрышко, частично проникающих внутрь вакуолей. Под влиянием конденсации хромомем внутри происходят явления, сходные с пуффингом: либо конденсация хромомем внутриядрышкового хроматина (при пониженной температуре 12—8 °С и при температурном шоке — 45 °С), либо деспирализация и разделение на более тонкие фибриллы (при температуре, нормальной для развития растений — 15—12 °С) при несколько повышенной — 27—22 °С). Температурные воздействия при-

водят к обратимым изменениям ядрышка, связанным с изменением функционального состояния политенных хромосом (см. рис. 10).

При неклассической политерии в гигантских клетках трофобласта независимо от стадии цикла ядра выявляется единственное ядрышко, которое образует лопасти (три-четыре в каждом ядрышке) и может иногда разделяться на несколько ядрышек (в трофобласте крысы, мыши, кролика). Присутствие единственного ядрышка (или немногих) в ходе многократного умножения генома является дополнительным указанием на политенную природу ядер трофобласта (Зыбина, 1977).

В политенных хромосомах Diptera район ядрышкового организатора при формировании ядрышка характеризуется деспирализацией хромонем и образованием структуры типа кольца Бальбиани (Beegmann, 1962; Mechelke, 1953). Исследование структурных преобразований ядрышкового организатора в гигантских хромосомах Diptera позволило И. И. Кикнадзе (1972) сделать следующие заключения: как и во всех случаях активации хромосомных участков, основой преобразований является разделение ядрышкообразующей зоны на более тонкие пучки хромонем, деспирализация последних и образование боковых петель в районе ядрышкового организатора. При инактивации ядрышкового организатора он приобретает форму типичных дисков. В сформированном ядрышке хромонемы активной части ядрышкового организатора пронизывают всю толщу ядрышка и являются его морфологической и физиологической основой. Активный синтез РНК наблюдается по всей толще ядрышка. Автор отмечает, что ядрышко, в противоположность большинству других пуффов, имеет сложно организованную экстрахромосомальную часть, наличие которой, по-видимому, связано с более разносторонней активностью этого органоида ядра. В ядрышке не только происходит интенсивный синтез рРНК, но и совершаются определенные этапы формирования рибосом.

Фибриллярный центр ядрышка в интерфазе, в ходе митоза и мейоза

Данные относительно ультраструктурной организации ядрышек в соматических клетках и активно функционирующих половых клетках обобщены в ряде современных обзоров (Ченцов, Поляков, 1974; Smetana, Busch, 1974; Грузова, 1977; Туманишвили, Челидзе, 1983, и др.). Представления о структурно-функциональной организации ядрышка сложились в последние два десятилетия главным образом благодаря многочисленным данным электронно-микроскопического, цитохимического и автордиографического изучения этого органоида клетки. Основными структурными составляющими ядрышка являются фибриллярный компонент (толщина фибрилл 6—8 нм), гранулярный компонент, содержащий прорибосомные гранулы диаметром 15—20 нм, а также «аморфное» белковое вещество, состоящее из тончайших фибрилл (диаметром 2—3 нм). Участки хроматина, тесно контактирующего с ядрышком и проникающего внутрь его, являются районами ядрышкового организатора ядрышкообразующей хромосомы.

Вопрос о функциональной организации ядрышка привлекает внимание цитологов, особенно в плане выяснения взаимоотношений между ДНК ядрышкового организатора и другими компонентами ядрышка, являющимися, вероятно, продуктами транскрипционной активности рибосомных цистронов, локализованных в ядрышковом организаторе. В этой связи большой интерес представляет изучение так называемых фибриллярных центров. В настоящее время фибриллярным центром принято считать светлые сферические зоны, составленные фибриллярным материалом и окруженные более электронно-плотным фибриллярным компонентом (Goessens, 1976a, 1976b; Mirre, Stahl, 1978a; Зыбина, 1981a, 1981b; Туманишвили, Челидзе, 1983, и др.).

Ядрышковый фибриллярный центр найден в большом числе клеточных типов у растений и животных, в нормальных клетках и в клетках опухолей, *in vivo* и *in vitro*. Гессан и Лепуан (Goessens, Lepoint, 1979) в обзорной публикации приводят большой перечень сообщений, в которых указывается на существо-

вание фибриллярных центров, хотя во многих из перечисленных работ светлые зоны ядрышка, являющиеся, по-видимому, фибриллярными центрами, описаны под другими названиями: *pars amorpha* (Jzequel, Bernhard, 1964, и др.), светлые центральные зоны (Lafontaine, 1968), лакуны или лакунарные районы (Chouinard, 1970, 1974; Lafontaine, Lord, 1973, 1974) и др. Присутствие фибриллярных зон низкой электронной плотности внутри ядрышек описано в клетках асцитной опухоли Эрлиха (Goessens, 1973; Goessens, Lepoint, 1974), в клетках трофобласта мыши (Hernandez-Verdun, Legrand, 1971), в фибробластах цыпленка в норме и при экспериментальных условиях, в нескольких типах клеток у млекопитающих (Goessens, 1976b), в гетерокарионах клеточных гибридов эритроцитов цыпленка и клеток человека в культуре (Hernandez-Verdun, Bouteille, 1979; Hernandez-Verdun et al., 1980), в ооцитах мыши (Chouinard, 1971; Mirre, Stahl, 1978a, 1981), в оогониях, ооцитах и соматических клетках японского перепела (Mirre, Stahl, 1976, 1978b), в мериستمатических клетках бобов *Vicia faba* (Lafontaine, Chouinard, 1963), *Allium* сера (Chouinard, 1970, 1975b), *A. porum* (Lafontaine, Lord, 1974) и в ряде других случаев.

Сравнительное исследование ультраструктуры фибриллярных центров свидетельствует о том, что во всех типах клеток морфология их сходна, но имеются значительные вариации в отношении размеров, расположения среди других компонентов ядрышка и отчетливости их выявления в массе ядрышка. Так, например, фибриллярный центр имеет очень крупные размеры в клетках опухоли Эрлиха; в клетках большинства изученных тканей мыши и крысы фибриллярные центры имеют меньшую величину, а в гепатоцитах мыши почти не выявляются из-за очень небольшого размера, причем фибриллярные центры становятся более легко различимыми при некоторых экспериментальных условиях (Goessens, 1976b).

Цитохимические исследования, проведенные на ультраструктурном уровне, показали, что в состав фибриллярных центров входят белки, РНК и небольшое количество ДНК (Goessens, 1973; Lafontaine, Lord, 1973; Mirre, Stahl, 1978b; Туманишвили, Челидзе, 1983, и др.). Присутствие ДНК в фибриллярном центре обнаружено также методом автордиографии (Goessens, 1974, 1976a; Lord et al., 1977). С помощью метода гибридизации молекул ДНК и РНК *in situ* получено доказательство того, что в этих районах локализованы цистроны 28S и 18S РНК (Stahl et al., 1978). Важно, что фибриллярные центры дают положительную реакцию при окраске азотнокислым серебром, что, по-видимому, объясняется присутствием определенных кислых белков (C23 и B23) и является указанием на то, что фибриллярные центры каким-то образом ответственны за активный синтез рибосомной РНК (Hernandez-Verdun et al., 1978, 1980; Bourgeois et al., 1979). Позднее было высказано мнение, что активность ядрышкообразующих районов, меченных азотнокислым серебром, может быть связана с тем, что среди кислых аргирофильных белков может оказаться РНК-полимераза I, ответственная за транскрипцию рДНК (Mirre, Knibiehler, 1982).

Одним из подходов к исследованию роли фибриллярного центра является сравнительное изучение его структуры и взаимоотношений с другими компонентами ядрышка и ядрышкообразующей хромосомы на разных стадиях клеточного цикла — начиная от интерфазы, когда синтез РНК высок, и кончая митозом, когда он полностью прекращается и ядрышко как таковое исчезает. В интерфазных ядрах идентифицировать районы ядрышкового организатора трудно, поэтому связь между фибриллярным центром и другими районами ядрышкового организатора оказалось удобнее проследить в профазе митоза или мейоза, когда хромосомы могут быть идентифицированы и в то же время ядрышко еще не исчезает. Так, при изучении ультраструктуры ядер микроспоридиоцитов колокольчика оказалось, что та часть ядрышкообразующей хромосомы, которая соответствует ядрышковому организатору, морфологически идентична с фибриллярным центром (Jordan, Luck, 1976). В ооцитах мыши прослежено формирование ядрышек на стадии средней и поздней пахины в тесной связи с районом вторичной перетяжки. В этом районе фибриллы диаметром 5 нм, отходящие от боковых элементов синаптонемального комплекса, проходят

к фибриллярному центру образующихся ядрышек и проникают в них. Наблюдаемая связь между хромосомами и фибриллярным центром в значительной степени сходна с картинами, описанными в ооцитах японского перепела (Mirre, Stahl, 1976).

Изучение ядрышка в ходе митоза, проведенное на клетках опухоли Эрлиха, показало, что плотнофибриллярный и гранулярный компоненты исчезают в течение профазы, тогда как фибриллярные центры сохраняются в течение всего хода митоза (Goessens, Lepoint, 1974). Важно отметить, что фибриллярные центры всегда находятся в тесной связи с хромосомами и никогда не встречаются свободно в цитоплазме. Ультраструктура оставшегося ядрышкового материала, по-видимому идентичного фибриллярному центру, сходна с таковой ядрышкового организатора метафазных хромосом (Lafontaine, Chouinard, 1963; Brinkley, Stubblefield, 1974). Плотность упаковки фибрилл, образующих фибриллярный центр, в составе интерфазного ядрышка и метафазных хромосом одинакова. В поздней телофазе ядрышки реорганизуются вокруг материала фибриллярного центра: вначале они окружаются плотнофибриллярным, а затем гранулярным компонентом.

Таким образом, при рассмотрении динамики преобразований ядрышка в ходе клеточного цикла оказалось, что фибриллярный центр является его наиболее постоянной структурой, так как он сохраняется на всех фазах цикла, включая собственно митоз. Компоненты ядрышка, полностью исчезнувшие в профазе, реорганизуются в телофазе вокруг фибриллярного центра.

Подобные преобразования происходят не только в ходе митотического цикла, но иногда и в ходе дифференцировки — в тех случаях, когда ядрышкообразующие районы хромосом полностью инактивируются либо, наоборот, происходит их дерепрессия и возникновение активного ядрышка. Примером может служить нуклеологенез в ядрах эритроцитов цыпленка, реактивированных путем слияния с клетками человека (Hernandez-Verdun, Bouteille, 1979; Hernandez-Verdun et al., 1980). По мере реактивации ядрышки проходят через три стадии. На первой из них выявляется только район ядрышкового организатора, представленного фибриллярным центром, к которому примыкают участки конденсированного хроматина. На второй стадии («предъядрышко») появляется еще один компонент ядрышка, состоящий из плотных фибрилл, окружающих фибриллярный центр; при этом ядрышко еще лишено гранул. На следующей стадии, когда ядрышко полностью развито, оно состоит из светлой фибриллярной зоны (фибриллярного центра) и примыкающей к ней зоны плотного фибриллярного компонента; масса ядрышка увеличивается, и в нем появляется гранулярный компонент. На основании этих наблюдений Эрнандес-Верден и Бутэй (Hernandez-Verdun, Bouteille, 1979; Hernandez-Verdun et al., 1980) предложили простейшую модель нуклеологенеза, которая, на наш взгляд, может отражать и закономерности формирования ядрышка в ходе клеточного цикла.

Неудивительно, что наиболее удовлетворительная, общепринятая модель работы развитого ядрышка была составлена на основании изучения хромосом в профазе мейоза, а именно — на стадиях пахиномы—диплономы в ооцитах мыши (Mirre, Stahl, 1981), когда образуются хромосомы типа ламповых щеток и транскрипционная активность достигает очень высокого уровня (Зыбина, 1968, 1971). Согласно наблюдениям Мирра и Сталя (Mirre, Stahl, 1981), на стадии средней пахиномы, когда начинается формирование активно функционирующих ядрышек, последние располагаются по обе стороны от синаптонемального комплекса и содержат по одному фибриллярному центру, в который проникают тяжи ДНК. На стадии диплономы ядрышки увеличиваются в размере, превращаются в нуклеолономы. На стадии диплономы активация ядрышка сопровождается не только увеличением его массы и транскрипционной активности, но и количества фибриллярных центров, число которых превышает 100 на одно ядрышко, что сопровождается деконденсацией рДНК (Mirre, Stahl, 1981).

По мнению Мирра и Сталя, тяжи деконденсированной ДНК, выходя из района ядрышкового организатора, образуют единую систему, состоящую из фибриллярных центров и соединяющих их нитей рДНК, при этом последняя

может входить в состав фибриллярного центра, находясь внутри его в более конденсированном состоянии. Транскрипция рДНК может осуществляться не только на поверхности фибриллярного центра, как считалось ранее, но и на участках деконденсированной рДНК, расположенной между фибриллярными центрами. Именно эти районы вместе с новосинтезированной рРНК (плотный фибриллярный компонент) и ядрышковыми РНП-гранулами образуют тяжи нуклеолонемы. Описанная схема, безусловно, в определенной мере гипотетична, поэтому еще трудно с уверенностью говорить о той роли, которую играют фибриллярные центры в осуществлении транскрипции рДНК, тем более что она предложена на основе изучения лишь одной модели. Необходимы дальнейшие исследования, которые позволят уточнить природу и функциональное значение фибриллярных центров.

В настоящее время существуют уже некоторые данные о том, что число фибриллярных центров и их расположение по отношению к другим компонентам ядрышка зависят от функционального состояния последнего. Краевое расположение фибриллярных центров в ядрышке наблюдается на ранних стадиях профазы мейоза — на лептонеме, зигонеме, пахинеме и ранней диплонеме (Mirre, Stahl, 1976, 1978a, 1978b; Hartung et al., 1979). На продвинутой стадии диплонемы — в период максимального уровня выработки рибосомной РНК — фибриллярные центры могут располагаться в центральной части ядрышка, что, вероятно, является следствием развития нуклеолонемы (Mirre, Stahl, 1981; Зыбина и др., 1984a). В период, когда нуклеолонемное строение ядрышка исчезает, краевая локализация фибриллярных центров проявляется так же, как и в начале диплонемы. Формирование активного ядрышка может сопровождаться увеличением не только его объема, но и количества фибриллярных центров. Корреляция между объемом ядрышка и количеством фибриллярных центров наблюдалась, например, в ооцитах мыши (Mirre, Stahl, 1981) и в клетках культуры ткани почки эмбриона свиньи (Гозак и др., 1983).

При исследовании вопроса о том, не соответствует ли фибриллярный центр одному ядрышковому организатору, оказалось, что последний может образовывать один или несколько фибриллярных центров (Гозак и др., 1983), которые могут входить в состав сложного комплекса, где их окружают участки плотно-фибриллярного компонента. Такие структуры были названы фибриллярными комплексами. Оказалось, что их число на одно ядрышко совпадает с числом ядрышковых организаторов, т. е., по-видимому, один ядрышковый организатор образует один фибриллярный комплекс — либо с одним, либо с несколькими фибриллярными центрами.

Таким образом, исследование связи фибриллярных центров с участками ядрышкообразующих хромосом оказалось весьма плодотворным для выяснения общих принципов организации ядрышка. По всей вероятности, эти принципы станут еще более понятными при дальнейшем изучении «работы» ядрышка в ходе клеточного цикла и дифференцировки клетки. Пример организации ядрышка в случае сокращенного клеточного цикла — неклассической политении в гигантских клетках трофобласта — будет рассмотрен в следующем разделе.

Изменение ультраструктурной организации ядрышка в цикле политенного ядра и в ходе дифференцировки клеток трофобласта

Несколько ранее мы уже отмечали, что политенные ядра, различающиеся степенью конденсации хроматина в зависимости от стадии цикла, характеризуются различной ультраструктурной организацией ядра. Что касается ультраструктуры ядрышка, то здесь также наблюдаются хорошо выявляемые различия, отражающие изменения его функционального состояния (Зыбина, 1981a). В ядрах гигантских клеток трофобласта с деконденсированным хроматином на 12-е сут ядрышко имеет нуклеолонемное строение и весьма изрезанные контуры. Большую часть ядрышка составляет фибриллярно-гранулярный материал (диаметр гранул 20 нм), образующий как тяжи нуклеолонемы (табл. XXII), так и более обширные зоны, имеющие неправильные очертания

и ограничивающие лакунарные пространства внутри ядрышка. Гранулярный компонент хорошо выражен. Лакуны внутри ядрышка многочисленны, иногда они соединяются непосредственно с кариоплазмой. Участки плотнофибриллярного компонента, как правило, соприкасаются с лакунарными пространствами, но отсутствуют внутри более обширных зон гранулярно-фибриллярного материала. Сильно выдаются в лакунарные пространства и фибриллярные центры, состоящие из светлого фибриллярного материала, который окружен плотнофибриллярным компонентом. Часто фибриллярный центр имеет округлую форму (табл. XXII, б), но иногда он может иметь значительно большие размеры и неправильные очертания; в последнем случае, по-видимому, один фибриллярный центр образовался в результате слияния нескольких небольших. На этой стадии цикла политенного ядра вокруг ядрышка отсутствует слой конденсированного перинуклеолярного хроматина; вместе с тем можно проследить за тем, как тонкие хроматиновые фибриллы кариоплазмы проникают в открытые лакунарные пространства ядрышка и часто примыкают к участкам плотнофибриллярного компонента.

В политенных ядрах с конденсированным хроматином основная масса ядрышка также составлена гранулярно-фибриллярным материалом, однако гранулярный компонент здесь выражен уже в меньшей степени, чем на предыдущей стадии клеточного цикла. Структура ядрышка несколько более компактна, однако в нем присутствует значительное количество довольно крупных лакун (табл. XXIII). Ядрышко характеризуется наличием конденсированного околядрышкового хроматина. На этой стадии цикла политенного ядра лучше, чем на стадии с деконденсированным хроматином, выявляется проникновение тяжелей околядрышкового хроматина в лакунарные районы ядрышка. В глубже расположенных лакунах хроматин обнаруживается в виде рассеянных фибрилл и небольших компактных глыбок. Фибриллярные центры на этой стадии цикла также обнаруживаются, но не столь отчетливо — вероятно, они маскируются другими компонентами ядрышка (табл. XXIII, б).

Таким образом, уже в пределах двух стадий в цикле политенного ядра (*S* и *G*) состояние ядрышкообразующих районов хромосом претерпевает заметные изменения. На стадии *S* эти участки хромосом почти полностью деконденсированы и обнаруживаются внутри лакун ядрышка в виде тонких нитей и, вероятно, развитой системы фибриллярных центров. На стадии *G* участки ядрышкообразующих хромосом, проникающие внутрь ядрышка, более конденсированы и вследствие этого лучше прослеживаются в виде утолщенных тяжелей внутри лакунарных пространств, они же окружают заметным слоем ядрышко по периферии. Сходные изменения состояния ядрышкообразующих районов происходят при переходе от интерфазы к профазе и, наоборот, при возвращении телофазных ядер в интерфазу в клетках корневой меристемы лука (Chouinard, 1970, 1975b; Lafontain, Lord, 1974). В профазе и телофазе можно наблюдать участки ядрышкового организатора в спирализованном состоянии, в то время как в интерфазе хроматин имеет вид тонких, едва заметных фибрилл вследствие деспирализации этих участков. В гигантских клетках трофобласта проявляется та же тенденция, выраженная в меньшей степени. Можно сделать вывод, что состояние ядрышкообразующих районов хромосом изменяется и в ходе сокращенного клеточного цикла (политенизация), когда полностью выпадает механизм митоза.

Об этом же свидетельствует изменение соотношения между гранулярным и фибриллярным компонентами в цикле политенного ядра гигантских клеток трофобласта. На стадии *S* доля гранулярного компонента в массе ядрышка значительна, тогда как на стадии *G* отмечено ее уменьшение. Поскольку гранулярный компонент ядрышка представляет собой, по-видимому, прорибосомный материал (Miller, Beatty, 1969), можно полагать, что и количественные изменения числа гранул отражают изменение транскрипционной активности ядрышкового организатора в цикле эндорепликации политенного ядра. Подтверждением этому служат результаты автордиографического исследования синтеза РНК в ядрышках клеток трофобласта крысы. Синтез РНК в ядрышке значительно выше в *S*-периоде по сравнению с периодом *G* (Зыбина, 1963б). Что касается изменений гранулярного компонента в ходе обычного митоти-

ческого цикла, то и в этом отношении имеется аналогия между процессами, происходящими в ядрышке в ходе цикла митоза и цикла политенного ядра. Как показано Ноэлем с соавторами (Noel et al., 1971) на культуре клеток китайского хомячка, в S-фазе в ядрышке присутствует большое количество гранул, однако их число заметно уменьшается в G₂-фазе, незадолго до начала профазы митоза.

В период терминальной дифференцировки клеток трофобласта крысы, когда синтез ДНК прекращается, а синтез РНК в ядре несколько снижается, можно наблюдать, как и на предыдущих стадиях, два состояния ядрышка, которые соответствуют и различному состоянию хроматина. На 17-е сут развития в гигантских клетках трофобласта в ядрах с деконденсированным хроматином (первый тип) тонкие хроматиновые нити, рассеянные по кариоплазме, приходят в непосредственный контакт с поверхностью ядрышка, но не образуют слоя конденсированного перинуклеолярного хроматина (табл. XXIV). Крупные ядрышки имеют более гладкие очертания, чем в менее дифференцированных клетках, и ретикулярную структуру. Ядрышко состоит из довольно толстых тяжей фибриллярно-гранулярного компонента, отграниченных друг от друга узкими лакунарными пространствами; в отдельных участках к лакунам примыкают фибриллярные центры — как одиночные округлые, так и более крупные, образованные, по-видимому, путем слияния нескольких. Фибриллярные центры на этой стадии выявляются не очень отчетливо. Количество гранул в фибриллярно-гранулярном компоненте ядрышка на 17-е сут развития плаценты сильно уменьшается по сравнению с менее дифференцированными клетками (Зыбина, 1981a, 1981б).

В ядрах с частично конденсированным хроматином (второй тип) ядрышки сохраняют ретикулярное строение и состоят из нескольких компонентов. Основную массу ядрышка составляют умеренно электронно-плотный материал и тяжи из плотно расположенных фибрилл. Гранулярный компонент представлен в незначительной степени и сильно варьирует от клетки к клетке: в одних ядрышках он встречается в центральных и периферических районах (табл. XXV, б), в других — только на периферии или же совсем отсутствует (табл. XXVI). Фибриллярные центры в ядрышках обнаруживаются лучше, чем в клетках с деконденсированным хроматином, вероятно вследствие того, что они не маскируются гранулярным компонентом ядрышка.

Более четко, чем в ядрах с деконденсированным хроматином, прослеживается связь перинуклеолярного конденсированного хроматина с хроматиновыми тяжами внутри ядрышка. Последние более конденсированы, чем в ядрах первого типа на этой стадии развития. Вероятно, вследствие этого довольно отчетливо прослеживается проникновение хроматиновых тяжей в глубь ядрышка по лакунарным пространствам и их непосредственный контакт с плотнофибрилярным компонентом, окружающим фибриллярные центры (табл. XXVI). Таким образом, в ядрах с частично конденсированным хроматином в терминальный период дифференцировки клеток трофобласта происходит более глубокая, чем на ранних стадиях развития, конденсация ядрышкообразующих хромосом и района ядрышкового организатора, что дает возможность проследить непрерывную связь хроматиновых структур внутри ядрышка.

В настоящее время уже известны общие закономерности изменений организации ядрышка в ходе дифференцировки соматических и половых клеток, сопровождающихся ингибированием синтеза РНК. При дифференцировке клеток наблюдается постепенная утрата нуклеолонемного строения ядрышек, их уплотнение, уменьшение гранулярного компонента вплоть до полного его исчезновения и значительная структуризация хроматина (Газарян, Кульминская, 1966; Газарян и др., 1967; Chouinard, 1971; Ченцов, Поляков, 1974, и др.).

Сходные изменения сопутствуют дифференцировке клеток трофобласта. Прогрессивная структуризация хроматина и исчезновение гранулярного компонента свидетельствуют о затухании транскрипционной активности ядрышкового организатора. На это указывают также и данные автордиографического изучения синтеза РНК в ядрышках гигантских клеток трофобласта (Зыбина, 1963б). В ядрышках высокодифференцированных клеток на 19-е сут развития плаценты синтез РНК снижается почти в два раза по сравнению с 14-ми сут.

Как известно, фибриллярные центры присутствуют в ядрах как с высоким, так и с низким уровнем синтеза РНК (Mirge, Stahl, 1978b; Goessens, Lepoint, 1979; Туманишвили, Челидзе, 1983). Интересно, что при ингибировании синтеза РНК некоторыми антибиотиками в фибробластах эмбриона цыпленка фибриллярные центры становятся легко различимыми (Goessens, 1976a). Для гигантских клеток трофобласта выявлена следующая закономерность: в менее дифференцированных клетках фибриллярные центры лучше выявляются в нуклеолономных ядрышках на S-фазе, для которых характерен более высокий уровень синтеза РНК, чем для ядрышек в ядрах на стадии G (12-е сут развития). В клетках, близких к терминальной дифференцировке (17-е сут развития), фибриллярные центры отчетливее обнаруживаются в ядрах со структурированным хроматином. Значение этого явления пока остается невыясненным (Зыбина, 1963б; Зыбина, 1981а, 1981б).

Обобщая все приведенные данные, следует подчеркнуть, что закономерности изменения структуры ядрышек в гигантских клетках трофобласта во многом аналогичны изменениям ультраструктуры поличенных хромосом — как в ходе клеточного цикла, так и в течение дифференцировки. Можно полагать, что состояние ядрышкообразующих районов неклассических поличенных хромосом в значительной степени отражает общий уровень конденсации и транскрипционной активности последних в течение всего онтогенеза клетки.

ФРАГМЕНТАЦИЯ ЯДЕР ГИГАНТСКИХ КЛЕТОК ТРОФОБЛАСТА —
ТЕРМИНАЛЬНЫЙ ЭТАП ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ

Фрагментация гигантских ядер — закономерный процесс

Вторичные гигантские клетки трофобласта остаются жизнеспособными почти до конца беременности, и лишь незадолго до родов претерпевают дегенерацию. Как уже говорилось, во вторичных гигантских клетках цикл репликации хромосом постепенно замедляется и прекращается к 17—18-м сут. После окончания периода роста ядра значительной части гигантских клеток фрагментируются, причем ядерные фрагменты не способны к синтезу ДНК (табл. X, д). Разделение единичных ядер на фрагменты в плаценте мыши наблюдается уже на 10-е сут, в плаценте крысы — на 13-е сут (Зыбина, 1963а, 1963б; Зыбина и др., 1979). В результате такого разделения каждое вновь образовавшееся ядро окружается независимой ядерной оболочкой. На последующих стадиях развития плаценты фрагментируется все большее количество ядер в гигантских клетках трофобласта, особенно интенсивно этот процесс протекает в последние несколько суток беременности, предшествуя массовой дегенерации клеток перед отделением плаценты.

Фрагментация высокоплодных ядер на большое число мелких осуществляется двумя способами. В первом случае вся масса гигантского ядра, по-видимому, довольно быстро разделяется на множество фрагментов. Их насчитывается несколько десятков (рис. 32; табл. XXVII). Мелкие ядра, образовавшиеся из гигантского, имеют округлую, иногда не совсем правильную форму; они сплюснены, тесно прижаты друг к другу и в течение некоторого времени располагаются в пределах очертаний исходного ядра. Впоследствии фрагменты отделяются друг от друга и рассеиваются по цитоплазме гигантской клетки.

Во втором случае происходит, вероятно, постепенное отпочковывание от гигантского ядра большого числа пузыревидных светлых ядер. Отпочковывание может начаться с одной стороны гигантского ядра, а затем постепенно охватить всю его поверхность (рис. 32, а). По-видимому, принципиальных отличий между этими двумя способами фрагментации нет.

Ядерная оболочка принимает непосредственное участие в процессе деления интерфазного гигантского ядра путем его фрагментации. Она может утолщаться и образовывать многочисленные короткие выступы, отходящие в глубь исходного ядра (табл. XXVII, а, б). В других случаях древовидно ветвящиеся массивные выросты ядерной мембраны вырастают в центральную часть исходного ядра; эти выросты ветвятся и растут по направлению от центра к периферии ядра, подразделяя его на мелкие фрагменты (табл. XXVII, г). В некоторых случаях образуются длинные глубоко проникающие в кариоплазму складки, которые отшнуровывают более мелкие ядра (табл. XXVII, в).

Пока еще трудно с определенностью сказать, как происходит распределение хромосомного материала при распадении гигантского ядра на мелкие фрагменты. Однако известно, что существует преемственность между ядрышками в старом исходном ядре и во вновь образовавшихся фрагментах. Исходное ядро гигантской клетки на срезах содержит два-четыре крупных ядрышка овальной или более сложной формы. Если ядро разделяется сначала на небольшое число крупных фрагментов, которые в свою очередь делятся на более мелкие, то при этом наблюдается и разделение ядрышкового материала (рис. 32, а, б). Если же фрагментируется не очень крупное ядро, то на серии срезов удастся наблюдать последовательные этапы разделения ядрышка в исходном ядре и перемещение мелких ядрышек в ядерные фрагменты (рис. 32, в). Эти наблюдения свидетельствуют о довольно регулярном распределении ядры-

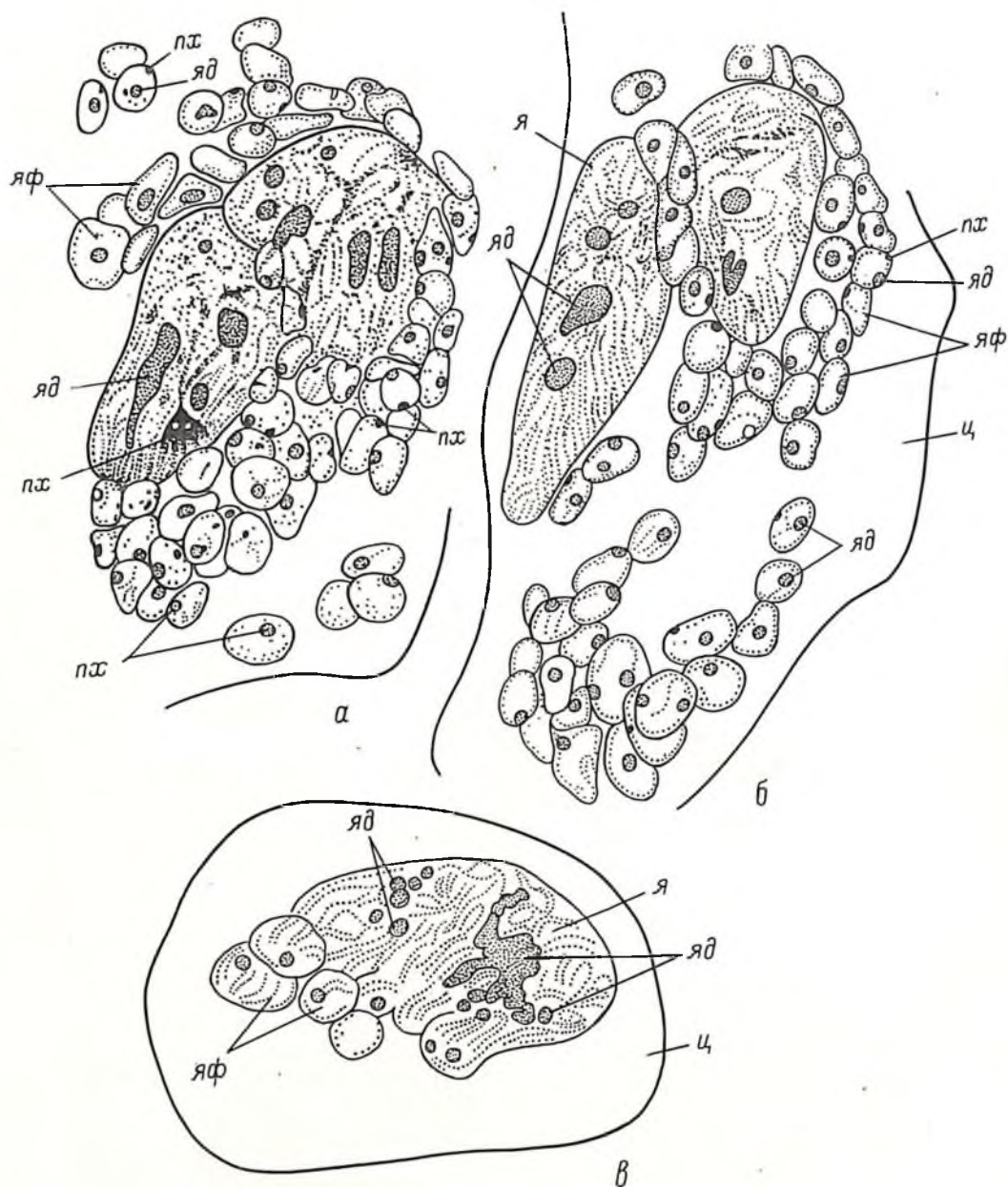


Рис. 32. Фрагментация гигантского ядра в клетках трофобласта крысы; распределение маркеров интерфазного ядра — ядрышек и телец полового хроматина — при распадении ядра на фрагменты. а — крупное тельце Барра в исходном ядре и мелкие — в ядерных фрагментах; б, в — разделение крупных ядрышек на более мелкие и распределение последних во вновь образовавшиеся ядерные фрагменты. я — ядро, яд — ядрышко, яф — ядерные фрагменты, ц — цитоплазма, пх — половой хроматин.

шек и, вероятно, ядрышкообразующих хромосом при распадении гигантского ядра на фрагменты (Зыбина, 1970).

Интересные результаты о распределении ядрышкообразующих хромосом получены при изучении фрагментации гигантских ядер в трофобласте мыши. Для политенных ядрышкообразующих хромосом мыши характерно присутствие крупных блоков околядрышкового гетерохроматина (табл. XIV; см. также табл. XXVIII, а). Фрагментация гигантского ядра сопровождается разделением и гетерохроматиновых блоков, прилежащих к ядрышку (табл. XXVIII, в, г). В получившихся ядерных фрагментах около мелких ядрышек видны небольшие округлые, но четко различимые гетерохроматиновые глыбки (табл. XXVIII, б.

д, е). На наш взгляд, этот факт свидетельствует о каких-то пока не вполне ясных процессах разделения ядрышкообразующих хромосом и их перераспределения в исходном ядре в ходе фрагментации (Зыбина и др., 1979).

При фрагментации ядер гигантских клеток трофобласта крысы оказалось удобным проследить судьбу тельца Барра. В ходе фрагментации происходит разрыхление и разделение крупного тельца Барра на множество мелких. Лежащие рядом с исходным ядром мелкие фрагменты содержат одно или несколько небольших хроматиновых глыбок, по величине и локализации соответствующих тельцу Барра (рис. 32, а, б). Все эти данные свидетельствуют в пользу того, что при фрагментации гигантского ядра происходит довольно регулярное распределение хромосом в ядерные фрагменты. При этом ядрышкообразующие хромосомы, гетерохроматиновые блоки и тельце Барра играют роль своеобразных маркеров, позволяющих делать некоторые заключения о поведении отдельных хромосом при фрагментации.

С целью анализа закономерностей распределения хромосомного материала при фрагментации гигантского ядра проведено определение содержания ДНК в ядерных фрагментах. Оказалось, что как в плаценте крысы, так и в плаценте мыши во время формирования ядерных фрагментов имеет место довольно отчетливо выраженная тенденция к погеномному распределению ДНК. Гистограммы, построенные на основании цитоспектрофотометрического определения содержания ДНК, обнаруживают четкие классы. В плаценте мыши выделено шесть классов ядер, соответствующих 1с, 2с, 4с, 8с, 16с и 32с (рис. 33, г, д). На более продвинутых стадиях развития зародыша фрагментация гигантских ядер в трофобласте протекает менее полно, чем на ранних. Если в плаценте на 17-е сут развития наиболее часто встречались фрагменты с уровнем плоидности 1с, 4с и 8с (рис. 33, г), то на 19-е сут обнаружены преимущественно фрагменты, имеющие более высокую степень плоидности — 4с, 8с и 16с (рис. 33, д).

Подобная закономерность была выявлена и у зародышей крысы (рис. 33, а—в). В плаценте на 14-е сут развития модальные значения классов плоидности соответствуют 1с, 2с, 4с и 8с, тогда как на 17-е сут основной процент составляют ядра со степенью плоидности 3с, 4с и 8с. В это же время появляются ядерные фрагменты ранее не встречавшейся, более высокой степени плоидности — 16с.

Выявлены некоторые отличия в характере фрагментации гигантских ядер у двух изученных видов. Они состоят в том, что в плаценте мыши процесс разделения гигантских ядер приводит к образованию более крупных фрагментов, чем у крысы. В плаценте белой крысы самого позднего срока развития (рис. 33, в) модальные значения классов плоидности ядер на гистограмме сдвинуты влево по сравнению с таковыми у мыши (сравни рис. 33, в и 33, д).

В трофобласте кролика фрагменты также могут быть различной степени плоидности: от гаплоидных до 32с. Частота встречаемости фрагментов разной степени плоидности неодинакова: чаще встречаются ди-, три- и тетраплоидные, несколько реже — гекса- и еще реже — октаплоидные ядра (Зыбина и др., 1973).

На заключительных этапах дифференцировки плаценты могут появляться фрагменты, степень плоидности которых соответствует 3с, 6с и 12с (рис. 33, в, д). Чем обусловлено предпочтительное разделение на фрагменты с содержанием ДНК, кратным 3с, пока неясно.

Таким образом, результаты морфологического наблюдения и цитофотометрического определения содержания ДНК в ядерных фрагментах позволяют предполагать, что при фрагментации высокополиплоидных ядер в гигантских клетках трофобласта распределение хромосомного материала имеет тенденцию к погеномному, причем на более ранних стадиях развития плаценты эта тенденция выражена более отчетливо, чем на поздних. Исследование поведения маркеров интерфазного ядра дает некоторое представление о том, какие перестройки в ядре обеспечивают погеномное распределение хромосом в ядерных фрагментах. Разделение ядрышек, хромоцентров ядрышкообразующих хромосом и тельца Барра в исходных ядрах и перемещение их во вновь образующиеся мелкие ядра, по-видимому, указывают на процесс деполитенизации хромосом, происходящий во время фрагментации гигантского ядра.

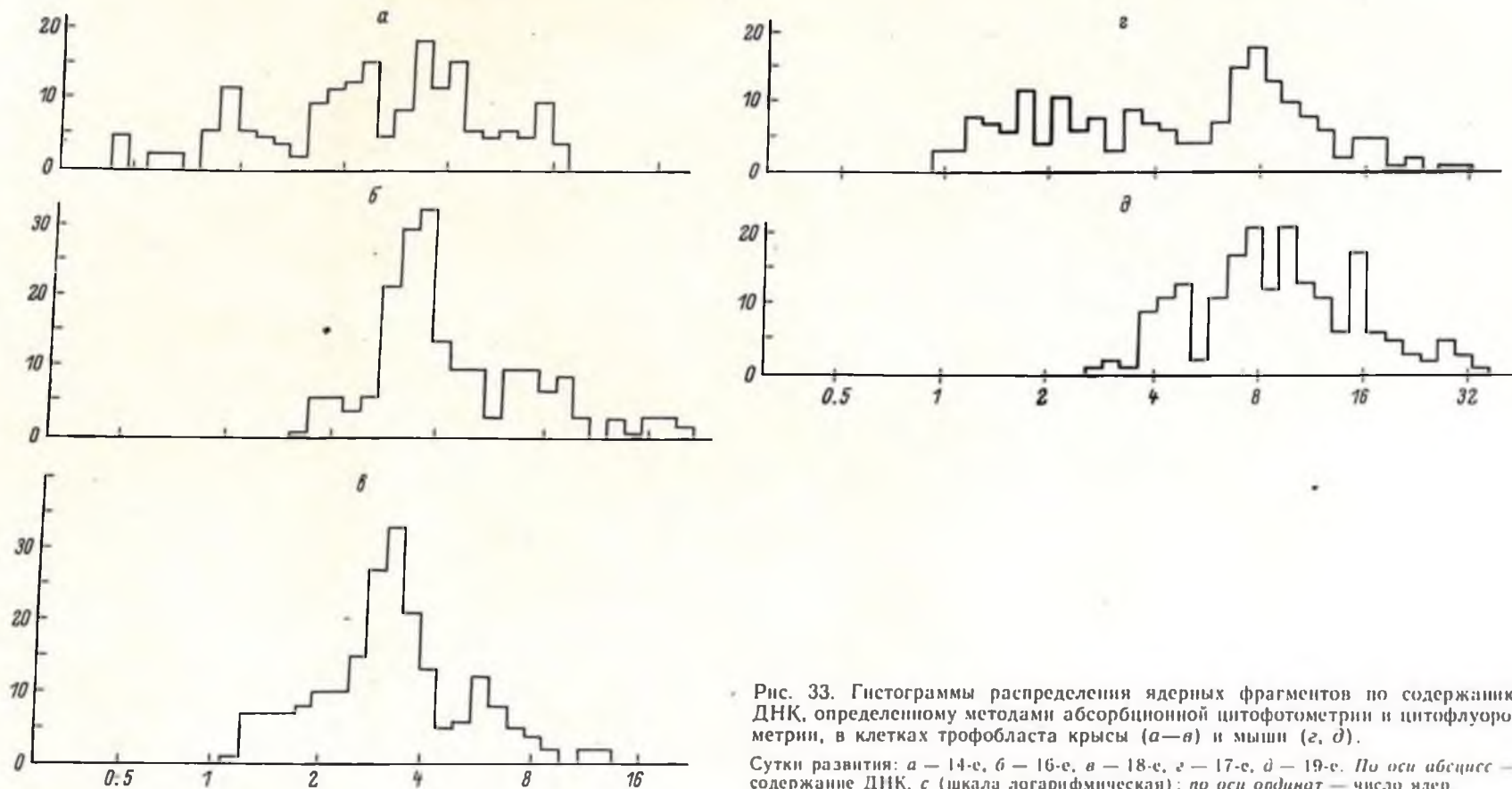


Рис. 33. Гистограммы распределения ядерных фрагментов по содержанию ДНК, определенному методами абсорбционной цитофотометрии и цитофлуориметрии, в клетках трофобласта крысы (а—в) и мыши (г, д).

Сутки развития: а — 14-е, б — 16-е, в — 18-е, г — 17-е, д — 19-е. По оси абсцисс — содержание ДНК, с (шкала логарифмическая); по оси ординат — число ядер.

Пути преобразований структуры политенных хромосом
и возможность перехода политенных ядер в полиплоидные или полигеномные

Перестройка генетического материала в исходном гигантском ядре, приводящая к деполитенизации перед фрагментацией, по всей вероятности, находится в прямой связи с лабильностью неклассических политенных хромосом. В этой главе мы уже говорили, что отличия в строении политенных хромосом млекопитающих от классических политенных хромосом *Diptera* не являются абсолютными. Многие черты, характерные для политенных хромосом млекопитающих — возможное отсутствие соматической конъюгации гомологов, неполное соединение сестринских хромонем по длине хромосомы и отсутствие четкого дискового рисунка, временный характер соединения хромонем в политенной хромосоме и возможность перехода от политенного ядра к полиплоидному — присущи также и политенным хромосомам некоторых *Diptera* и других видов насекомых. К этому необходимо также добавить, что проявления лабильности политении могут иметь очень широкий диапазон — от невыраженной конъюгации гомологичных хромосом и неполного соединения хромонем до полного разъединения последних.

Отсутствие соматической конъюгации обнаружено в слюнных железах галловых мушек. У *Harmandia laevi* (Cecidomyiidae, *Diptera*) в ядрах клеток гигантского резервуара встречается восемь хромосом (диплоидное число); судя по расположению дисков, пuffed и ядрышек, их можно объединить в четыре пары гомологов (Жимулев, Лычев, 1972). В слюнных железах *Cecidomyia serotina* отсутствие соматической конъюгации распространяется только на одну С-хромосому (White, 1948).

Возможность разъединения значительных по длине участков политенных хромосом на олиготенные фибриллы может рассматриваться как следующая ступень изменчивости их структуры. В то же время такой процесс, по-видимому, является шагом к деполитенизации. Политенные хромосомы слюнных желез у галлиц иногда не обнаруживают тесного присоединения сестринских хромонем друг к другу. Они могут претерпевать глубокие структурные изменения во время дифференцировки клеток, при этом происходит расщепление хромосом на олиготенные фибриллы и отдельные хромонемы (White, 1948; Matuszewski, 1965; Henderson, 1967a; Жимулев, Лычев, 1972). Этот процесс расщепления протекает асинхронно. В клетках, расположенных в различных отделах слюнной железы галлицы *Dasynema urticae*, степень расщепления политенных хромосом различна. Так, в клетках базального резервуара сохраняются типичные политенные хромосомы, в переходном отделе от базального резервуара к дистальному отделу железы наблюдается расщепление политенной хромосомы на отдельные фибриллы на обеих ее концах; в клетках дистального отдела процесс расщепления политенных хромосом заходит значительно дальше, так что хромосомы соединены только в гетерохроматическом участке.

Матушевский (Matuszewski, 1965) отмечает, что разным стадиям онтогенеза клетки соответствует различная степень соединения хромонем. В ядрах дистального отдела слюнной железы у молодых личинок *D. urticae* имеются типичные политенные хромосомы — А и В, остальные имеют более разрыхленную структуру. На одном конце А-хромосомы расположено кольцо Бальбиани, которое, по мнению автора, представляет собой первый шаг к процессу деспирализации и полному разъединению хромосом на этом участке, что происходит на более поздних этапах развития. Расщепление хромосомы на фибриллы не сопровождается заметным сокращением последних.

Такого рода процессы, по всей вероятности, могут заходить и дальше, приводя к полному расщеплению политенных хромосом на хромосомы меньшей степени политении. Полиплоидные политенные ядра, т. е. ядра с числом политенных хромосом, большим $2n$, возникают в синцитии полости тела у личинок того же объекта под влиянием зародышей осы, паразитирующих в теле этих личинок. В гигантских ядрах обнаруживается множество хромосом, морфология которых является типичной для политенных хромосом, однако они имеют значительно меньшие размеры по сравнению с таковыми из слюнных желез этого же вида. Подсчет хромосом показал, что ядра содержат набор хромосом примерно

60—120n (Matuszewski, 1964). Хендерсон (Henderson, 1967a) рассматривает это как возможный случай полного разъединения политенных хромосом на олиготенные фибриллы. Вторым примером расщепления политенных хромосом на олиготенные фибриллы являются ядра клеток слюнных желез галлицы *Lestodiplosis*, в которых число наборов политенных хромосом равно 8—16n (Henderson, 1967b).

Картины возможного разъединения политенных хромосом на отдельные эндохромосомы описаны также и в ядрах клеток растений. Такой процесс наблюдался в клетках гаустория аронника *Agum maculatum* перед их дегенерацией (Erbrich, 1965).

В литературе имеются единичные работы, в которых процесс расщепления политенных хромосом детально прослежен морфологически. При изучении политенных хромосом в слюнных железах галлицы *Dasyneura affinis* Уайт (White, 1948) наблюдал наличие клеток с политенными и «полиплоидными» ядрами (табл. XXIX, а, б); «полиплоидными» ядрами названы такие, в которых видно огромное количество мелких хромосом. Между зонами клеток с политенными и «полиплоидными» ядрами имеется участок из клеток с переходным типом ядер. Диссоциация политенных хромосом, по мнению Уайта, может происходить постепенно: когда две политенные хромосомы сильно измененного, разрыхленного вида еще присутствуют в ядре, две другие уже претерпевают полное распадение на диффузные хроматиновые нити, соединенные с мелкими прозрачными гранулами или пузырьками (возможно, ядрышками). Такие нити диффузного хроматина, по всей видимости, представляют собой эндохромосомы, которые в результате полной диссоциации политенных хромосом заполняют собой все ядро (табл. XXIX, б). В питающих клетках овария у мясной мухи *Calliphora erythrocephala* получившиеся в результате такого разделения эндохромосомы проходят через типичные стадии эндомитоза — эндопрофазу, эндометафазу и эндоанафазу; при этом происходит и сокращение хромосом в длину. Следует отметить, что этот период обнаружения эндохромосом не является конечным этапом жизни клетки или клеточной популяции: на более поздних стадиях развития в некоторых ядрах эндополиплоидные хромосомы соединяются в рыхлый пучок, давая начало вторичным политенным хромосомам (Bier, 1957, 1960; Nagl, 1978).

Сходным примером является ход преобразований хромосом в ядрах питающих клеток в яйцевых трубках паразитической мухи *Ernestia consobrina* из семейства *Larvivoridae* (Хвостова, 1947). Вначале наблюдается образование рыхлых пучков, соответствующих, видимо, политенным хромосомам: в них ясно обнаруживается дисковая структура. Далее происходит распадение рыхлых пучков на несколько изолированных групп в известной мере спирализованных хромосом; каждое скопление хромосом, вероятно, соответствует исходному хромосомному пучку. Несколько позднее хромосомы расцениваются по всему ядру и заполняют его равномерно. Важно отметить, что в питающих клетках *E. consobrina*, так же как и у *Calliphora erythrocephala* существует возможность дальнейшего роста ядра и умножения хромосомного материала: после распада хромосомных пучков и расценивания хромосом по ядру у *E. consobrina* и 32n), а в единичных случаях здесь, как и у *C. erythrocephala*, имеет, по-видимому, место вторичная политенизация, приводящая к образованию гигантских хромосом (Хвостова, 1947). Подобные факты позволяют говорить о возможности полного разъединения хромосом в политенной хромосоме, что в свою очередь является крайним проявлением их лабильности.

В связи с вопросом о возможности разделения политенных хромосом на отдельные хромосомы (или эндохромосомы) интересны данные по индукции клеточных делений в клетках семядолей гороха *Pisum sativum* с высоким содержанием ДНК (Markes, Davies, 1979). При этом в ходе образования клеточной культуры обнаруживались либо полиплоидные клетки, 4—32n (рис. 34, а, б), либо клетки с политенными хромосомами, причем во втором случае наблюдалась конденсация хромосом, приводящая к превращению обычных пучков, характерных для гигантских хромосом растений, в своеобразные агрегаты из множества спирализованных хромосом (рис. 34, в, г). В ходе дальнейших

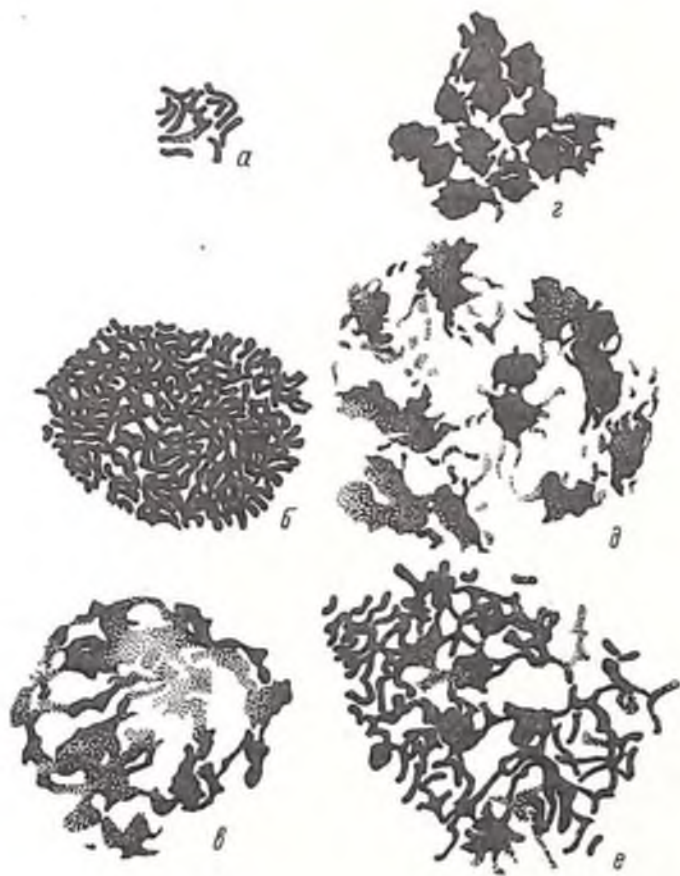


Рис. 34. Образование полиплоидных и политенных ядер в ходе формирования первичной культуры из семян *Pisum sativum* (по: Markes, Davies, 1979).

а — метафаза диплоидной клетки ($2n = 14$), *б* — метафаза $32n$, *в* — *г* — стадии диссоциации политенных хромосом с последующей конденсацией хромонем; *д* — политенное ядро, ранняя профаза; *е* — поздняя профаза, 14 конденсированных гигантских хромосом находятся под ядерной мембраной; *ж* — прометафаза, гигантские хромосомы уже полностью конденсированы и выглядят как скопление из 14 отдельных рядов лежащих политенных хромосом; *з* — метафаза, распадение политенных хромосом на индивидуальные хромосомы, напоминающие митотические; сохраняется остаточная группировка гомологичных хромосом (хромонем), входивших в состав политенной хромосомы.

преобразований происходит постепенное отделение индивидуальных хромосом от таких агрегатов, что впоследствии ведет к рассеванию хромосом. В результате образуется фигура, сходная с метафазной пластинкой. Получившееся образование отличается от метафазной пластинки полиплоидного митоза тем, что гомологичные хромосомы длительное время располагаются вблизи друг от друга (рис. 34, *д, е*). Если и в предыдущих примерах процесс распада политенной хромосомы сопровождался некоторой конденсацией хромонем (образование хромосом эндомитоза), то в случае распада политенных хромосом в культуре клеток семян гороха процессу распада предшествует почти полная конденсация хромонем. Все эти примеры наглядно указывают на то, что определенная степень конденсации (или тенденция к постепенной спирализации) является возможной предпосылкой деления политенной хромосомы на хромонемы (эндохромосомы).

В некоторых немногочисленных случаях деполитенизация может приводить к обособлению отдельных геномов внутри гигантского ядра и даже к разделению ядра на фрагменты значительно меньшей степени плоидности. Такое явление пока обнаружено только в трофобласте грызунов. Само по себе образование ядер меньшей степени плоидности из полиплоидных ядер представляет собой довольно редкое явление, однако некоторые механизмы этого процесса, по-видимому, имеют общие черты, поэтому рассмотрение их необходимо, на наш взгляд,

для того, чтобы попытаться представить картину преобразований, которые имеют место при подготовке к фрагментации гигантских ядер трофобласта.

Примером погеномного распределения хромосом является соматическая редукция в клетках задней кишки у личинок комара рода *Culex* (Berger, 1938; Grell, 1946). Для ядер этих клеток характерно хромонемное строение, хромосомы имеют ряд признаков политении; при полиплоидизации структура ядер не меняется (табл. XXIX, в, з). Во время метаморфоза в клетках появляются полиплоидные митозы, подсчет числа хромосом позволил определить степень плоидности (табл. XXIX, д, е) ядер — $64n$. В течение нескольких следующих друг за другом так называемых редукционных митозов (при отсутствии интерфазы) происходит разделение хромосом с образованием окта- и тетраплоидных ядер (табл. XXIX, з—е). Редукционные деления описаны также в личиночных клетках эпидермиса комара *Aedes aegypti* (Risler, 1959).

Другие известные примеры погеномного распределения хромосом также касаются беспозвоночных и простейших. В полиплоидных ядрах питающих клеток стенки семенного фолликула у разных видов саранчовых наблюдается обособление хромосом эндополиплоидных ядер в две или несколько групп (Кикнадзе, Тутурова, 1970; Истомина, 1976; Истомина, Высоцкая, 1977). Подсчет числа «эндомитотических» хромосом показал предпочтительное распределение в полиплоидных ядрах на равные геномы. В зависимости от степени плоидности ядра преобладают группы хромосом, соответствующие двум тетраплоидным, триплоидным, диплоидным и гаплоидным наборам.

Реже встречается иное, но также погеномное соотношение хромосом. Как показано в работах А. Г. Истоминой и Л. В. Высоцкой (Истомина, 1976; Истомина, Высоцкая, 1977), между группами хромосом иногда были видны перегородки или перетяжки, на электронно-микроскопическом уровне выявлено разделение их на отдельные ядра (Истомина, Кикнадзе, персональное сообщение). Пока не удалось выяснить, сопровождается ли деление ядра цитотомией; тем не менее подобные факты свидетельствуют о возможности погеномного расхождения хромосом в интерфазном ядре. Следует обратить особое внимание на то обстоятельство, что картины классического эндомитоза в ядрах питающих клеток стенки семенного фолликула авторы рассматривают как особую морфологическую форму интерфазного ядра (Кикнадзе и др., 1975; Кикнадзе, Истомина, 1980). Эти данные представляют собой интерес, поскольку свидетельствуют о возможном пространственном разделении геномов без вхождения клетки в митотический цикл.

Наиболее ярким примером погеномного распределения хромосомного материала является фрагментация полиплоидного ядра у простейших. Явление это тщательно изучено, и по этому вопросу имеется обширная литература, обобщенная в монографиях И. Б. Райкова (1967, 1978, 1982). Для многих радиолярий характерно присутствие высокополиплоидных ядер, при делении которых имеет место сегрегация геномов. Наиболее подробно этот процесс исследован у отряда *Phaeodaria*. Полиплоидным здесь становится единственное, так называемое первичное ядро.

Хорошо изучено размножение радиолярии *Aulacantha* — одного из представителей отряда *Phaeodaria* — которое происходит не только зооспорами, но и делением надвое. При делении первичного ядра в нем обнаруживается огромное количество крупных хромосом, которые, по предположению Грелля (Grell, 1953), являются цепочками сборных хромосом, причем каждая цепочка, по-видимому, представляет собой гаплоидный геном (субнуклеусная организация ядра). Во время эндомитоза, предшествующего делению, происходит репродукция сборных хромосом без распада их на одиночные. Возможно, это и обуславливает механизм последующей деполиплоидизации: в ходе спороядер, лежащих в общей цитоплазме. В дальнейшем цитоплазма фрагментируется на несколько многоядерных шаров. После прохождения вторичными ядрами нескольких серий деления хромосомы в них сильно конденсируются, дают зооспоры и каждая получает одну сборную хромосому. Весь этот сложный процесс рассматривается как распад первичного ядра особи на отдельные

геномы (путем их сегрегации); деполитонизация ядра идет в несколько этапов.

У других изученных видов радиолярий (например, *Collodaria*) первичное ядро в конце вегетативного периода жизненного цикла также становится полиплоидным, а фрагментация первичных ядер на вторичные представляет собой процесс сегрегации геномов. Полиплоидизация первичного ядра осуществляется здесь путем повторных внутриядерных митозов, во время которых происходит удвоение и расхождение центромер и связанных с ними пучков хромосом без деления самого ядра (Райков, 1978).

Макронуклеусы некоторых инфузорий также, по-видимому, имеют так называемую субнуклеусную организацию (Райков, Аммерман, 1976; Френкель, 1978). Так, макронуклеус инфузории *Colpoda*, приступившей к делению, содержит восемь агрегатов хромосом; последние, вероятно, представляют собой диплоидные субнуклеусы. Впоследствии эти агрегаты распределяются при двух делениях клетки сначала по четыре, а потом по два без прохождения репликации между делениями.

Интересный случай деполитонизации описан в экспериментально полученных клонах амёб *Acanthamoeba proteus* с увеличенным в два и более раз содержанием ДНК в ядре. При длительном культивировании таких амёб спонтанно происходит скачкообразное снижение содержания ДНК в ядре и наблюдается тенденция к возвращению его на исходный уровень. Причиной появления в клонах амёб с меньшим содержанием ДНК могут быть многополюсные митозы с последующим прохождением кардио- и цитотомии (Афонькин, 1984).

Механизм деполитонизации и обособления геномов в период, предшествующий фрагментации ядер гигантских клеток трофобласта, долгое время оставался неясным, так как (в отличие от простейших) не было известно, как осуществляется переход от политенного ядра к «полиплоидному» перед сегрегацией геномов. Процесс перестройки хромосомного материала удалось представить себе лишь благодаря сравнительному изучению этого явления у разных видов грызунов. У каждого из них различные стадии этого процесса проявляются в неодинаковой степени.

Начальный этап — расщепление политенных хромосом — особенно наглядно прослеживается в сверхгигантских клетках трофобласта серой полевки. При этом происходит распадение пучка политенной хромосомы на отдельные хромомеры (эндохромосомы), образовавшиеся эндохромосомы представлены вначале тонкими нитями, которые сосредоточены главным образом под ядерной оболочкой. Процесс распада политенных хромосом у этого объекта особенно отчетливо наблюдается на ядрышкообразующих хромосомах. Крупное, много-ячеистое ядрышко при этом разделяется на множество значительно более мелких ядрышек, заполняющих центральную часть кариоплазмы (Зыбина, 1984; Зыбина, Зыбина, 1985). Конденсация хромомер и здесь предшествует деполитонизации: непосредственно перед диссоциацией хромосомные пучки выглядят как агрегаты в известной мере спирализованных хромосомных тяжей.

В гигантских клетках трофобласта кролика также происходит диссоциация политенных хромосом на отдельные хромомеры. У кролика хромосомы эндохромосом обнаруживаются не только непосредственно перед фрагментацией, но и во время деления исходного ядра на фрагменты (в сверхгигантских клетках трофобласта полевки фрагментация ядер не обнаружена). Эндохромосомы имеют вид парных коротких утолщенных хромосомоподобных образований. Однако картины эндохромосом обнаруживаются не во всех ядрах, претерпевающих фрагментацию (Зыбина, 1977).

Можно себе представить, что распадение политенных хромосом на эндохромосомы является предпосылкой для следующего этапа — сегрегации геномов, что приводит в конечном итоге к правильному, погеномному распределению хромосомного материала в ходе фрагментации. Возможно, картины присутствия эндохромосом в ядерных фрагментах у кролика отражают уже второй этап — сегрегацию геномов. В пользу такой трактовки свидетельствуют приведенные выше данные о тенденции к погеномному распределению ДНК в ядерные фрагменты, а также о распределении определенных маркеров хромосом интерфазного ядра — ядрышек (полевка, крыса; см. рис. 32), гетерохроматиновых

блоков ядрышкообразующих хромосом (мышь; табл. XXVIII), телец Барра (крыса; см. рис. 32, а, б).

Совокупность морфологических и цитоспектрофотометрических наблюдений, проведенных на гигантских клетках трофобласта грызунов в ходе их дифференцировки, позволяет предположить следующий ход преобразований хромосомного материала, приводящий, возможно, к погеномному распределению хромосом в ядерные фрагменты. Вначале политенные ядра содержат хромосомы в виде пучков хромонем, более плотно прилежащих друг к другу в гетерохроматиновых районах. На более поздних стадиях дифференцировки наблюдается ослабление связи хромонем в пучках (табл. XVI). В период, предшествующий фрагментации (когда синтез ДНК полностью прекращен — по: Зыбина, 1963б), вероятно, происходит полное разъединение пучков на хромонемы, в том числе и в гетерохроматических районах (например, в околядрышковых хромоцентрах трофобласта мыши — по: Зыбина, 1977). Впоследствии политенные хромосомы оказываются разделенными на эндохромосомы (как это имеет место при делении гигантских ядер трофобласта у кролика). Таким образом, фрагментации, по-видимому, предшествует сложная перестройка генетического материала в исходном ядре, в результате которой из политенного оно становится полигеномным, отдельные геномы, вероятно, обособляются и подвергаются сегрегации при делении (Зыбина, 1981в).

Как обособляются в ядре отдельные геномы после расщепления политенных хромосом и каков механизм последующего собирания вместе всех хромосом, составляющих один геном, пока еще неясно. Как будет показано в следующем разделе, активная роль ядерной оболочки в процессе обособления геномов несомненна, однако каким образом ядерная оболочка участвует в процессе рассортировки хромосом, пока еще представить себе чрезвычайно трудно.

Приведенные примеры позволяют проводить аналогии и говорить о том, что у млекопитающих гигантское ядро может разделяться на множество мелких ядер путем фрагментации, и это явление сходно с сегрегацией геномов — явлением, характерным для деления высокополиплоидного ядра у простейших. Однако механизм умножения геномов у них различен, поэтому различаются и способы их обособления. Если у простейших полиплоидизация осуществляется путем умножения числа сборных хромосом или повторных внутриядерных митозов, и в обоих случаях отдельные геномы пространственно отграничены в ядре, то у млекопитающих имеет место политенизация хромосом, поэтому процесс сегрегации геномов сопровождается более сложными преобразованиями.

Интересно, что в гигантских клетках трофобласта, как и в ряде других случаев, и умножение геномов, и деполитенизация происходят без растворения ядерной оболочки. Однако последняя, без сомнения, играет определенную роль по крайней мере в процессах сегрегации геномов и фрагментации. Поэтому рассмотрение поведения ядерной оболочки необходимо для правильной расшифровки этих, до сих пор еще загадочных, процессов.

Реактивность мембран ядерной оболочки в ходе дифференцировки гигантских клеток трофобласта крысы при фрагментации их ядер и компартментализации цитоплазмы

Внутриядерные и цитоплазматические мембранные структуры и их роль в ходе дифференцировки клеток трофобласта. В настоящее время вопрос о возобновлении клеточных мембран и функциональных отношений между различными мембранными структурами клетки является одной из важных проблем цитологии. Эта проблема приобретает особую важность для изучения клеток трофобласта, где активность ядерной оболочки ярко выражена на различных стадиях роста и дифференцировки, и ядра претерпевают несколько этапов сложных преобразований — политенизацию, деполитенизацию и разделение на множество мелких ядерных фрагментов. В этой связи представляет интерес изучение формирования в клетке сложных мембранных структур, например таких как пористые пластинки (annulate lamellae), внутриядерные

трубочки, сферические мембранные комплексы, скопления поровых комплексов; многие из них являются производными ядерной оболочки.

Так, внутриядерные и цитоплазматические annulate lamellae, впервые описанные Свифтом (Swift, 1956), к настоящему времени обнаружены во многих клеточных типах у позвоночных и беспозвоночных животных и у растений (Afzelius, 1963; Adams, Hertig, 1965; Kessel, 1965; Kessel, Beams, 1969; Айзенштадт, Детлаф, 1972; Nagl, 1973d, 1976b; Longo, 1978; Spindler, Hemleben, 1982). Известно, что производные ядерной оболочки отличаются разнообразием строения, лабильностью, возможностью взаимопереходов одних в другие. Одним из способов образования как цитоплазматических, так и внутриядерных annulate lamellae является формирование на наружной или внутренней мембране небольших выростов, или пузырьков, которые потом отделяются от мембраны и соединяются друг с другом. В результате последовательного присоединения пузырьков образуются элементы пористых пластинок. Отдельный элемент пористой пластинки состоит из двух параллельных мембран, разделенных полостью. Концевые участки парных мембран сливаются, образуя уплощенную цистерну. Каждая пластинка содержит расположенные рядами поры. Такой процесс формирования annulate lamellae описан Кесселем в ооцитах тритона и асцидии (Kessel, 1963, 1964). Известны и другие способы образования annulate lamellae (Spindler, Hemleben, 1982).

Изучение внутриядерных мембранных структур находится в настоящее время на стадии накопления фактического материала. Кроме annulate lamellae, известны и другие внутриядерные структуры, которые также являются производными внутренней ядерной мембраны, но имеют несколько иное строение. Это, например, внутриядерные трубочки, которые встречаются в ядрах клеток эндометрия человека (Terzakis, 1965), в ооцитах лангуста (Kessel, Beams, 1968), жука чернотелки *Blaps lethifera* (Грузова, 1977), в клетках гепатомы (Babai et al., 1969) и у других объектов. Относительно функционального значения внутриядерных annulate lamellae и внутриядерных трубочек высказываются предположения, что в ряде случаев они служат для увеличения взаимодействия между ядром и цитоплазмой (Ollerich, Carlson, 1970; Nagl, 1973d, 1976b; Ченцов, Поляков, 1974, и др.). Однако уже можно предполагать, что функции, выполняемые мембранными структурами, не всегда однозначны, и в каждом конкретном случае они могут существенно различаться. Известно, что мембранные структуры могут служить не только для связи между ядром и цитоплазмой, но также для обособления участков ядра с хромосомами от остальной кариоплазмы, что, например, имеет место при образовании кариосферы в ооцитах комара *Aedes* (Fill, Moens, 1973), при обособлении соматических хромосом S от элиминирующихся E в ооцитах галлиц *Cecidomyiidae* (Zagrodzinska, 1975).

При изучении ультраструктуры гигантских клеток трофобласта крысы обращает на себя внимание активность мембран ядерной оболочки, которая выражается в образовании разнообразных ее производных как внутри ядра, так и в цитоплазме.

В клетках трофобласта на 12—17-е сут развития эмбриона довольно часто ядерная оболочка бывает складчатой. Характер складчатости ядерной оболочки несколько отличается в ядрах клеток двух изученных популяций (соединительная зона плаценты и вторичные гигантские клетки) и на разных этапах дифференцировки клеток. Клетки трофобласта соединительной зоны плаценты и вторичные гигантские клетки трофобласта отличаются друг от друга по локализации в плаценте, способу полиплоидизации и величине.

В соединительной зоне плаценты на 12-е сут развития только часть клеток трофобласта имеет складчатую оболочку. Степень складчатости может варьировать; это могут быть и небольшие поверхностные складки, и глубокие инвагинации, разделяющие ядро на несколько лопастей. И в том, и другом случае обе ядерные мембраны участвуют в образовании складок. Иногда от такой складки, образованной двумя мембранами, внутрь ядра врастает еще более глубокая складка, образованная одной только внутренней ядерной мембраной. Эта складка имеет вид узкой замкнутой полости, окруженной снаружи хроматином. Полость трубочки является в таких случаях продолжением перинуклеарного

пространства и не отличается от последнего по своей электронной плотности. На более поздних стадиях развития плаценты характер складчатости полиплоидных ядер меняется, ядра становятся более сходными с таковыми гигантских клеток трофобласта (Зыбина, 1979а).

Во вторичных гигантских клетках трофобласта также встречаются ядра, которые имеют многочисленные поверхностные складки (табл. XX, а) и глубокие инвагинации. Кроме инвагинаций и поверхностных складок, в образовании которых участвуют обе ядерные мембраны, в ядрах гигантских клеток трофобласта крысы на определенном этапе развития (на 11-е сут) появляются пористые пластинки (Зыбина, 1979в). Внутриядерные пористые пластинки в них отходят от ядерной оболочки, но располагаются вблизи. На электронограммах пористые пластинки имеют вид полых канальцев (табл. XXX). Хроматин прилегает к мембранным структурам внутриядерных пористых пластинок с двух сторон, и этим они отличаются от ядерной оболочки, у которой только внутренняя мембрана контактирует с хроматином. Внутриядерные пористые пластинки обычно одиночные, они встречаются в большем числе в участке кариоплазмы между ядрышком и ядерной оболочкой. В части, удаленной от ядерной оболочки, около ядрышка annulate lamellae переходит в трубочки, образуя иногда скопление внутриядерных трубочек.

Цитоплазматические пористые пластинки в гигантских клетках трофобласта отличаются от внутриядерных annulate lamellae (Зыбина, 1979в). Цитоплазматические annulate lamellae могут быть обнаружены в цитоплазме около ядра. Несколько рядов парных мембран с гладкими контурами располагаются друг над другом почти параллельно ядерной оболочке (табл. XXX, б). Парные мембраны соединены поровыми комплексами, на краях мембраны расширяются и утрачивают поры, ампулоподобные полости приобретают неправильные очертания и образуют цистерны эндоплазматической сети. Отчетливо видны скопления рибосом на поверхности краевых полостей. Система пористых пластинок может быть обнаружена в цитоплазме не только вблизи ядра, но и на значительном удалении от него. В гигантских клетках трофобласта крысы пачки пористых пластинок, лежащие рядом с ядром, могут быть продолжением наружной ядерной мембраны. Подобные картины описаны в ооцитах человека (Adams, Hertig, 1965; Hertig, Adams, 1967; Hertig, 1968). Наблюдаемое в трофобласте образование цистерн эндоплазматической сети из концевых участков цитоплазматических пористых пластинок обнаружено и в ооцитах стрекозы (Kessel, Beams, 1969).

Если цитоплазматические пористые пластинки присутствуют в клетке в течение очень ограниченного периода времени — только на 11-е сут развития зародыша крысы, а в трофобласте более поздних сроков развития они уже не встречаются, то внутриядерные пористые пластинки можно обнаружить в клетках трофобласта на протяжении очень длительного срока беременности — с 11-х и до 18-х сут (Зыбина, 1979в). По данным Джолли (Jollie, 1969), они присутствуют в трофобласте крысы до конца беременности.

В плаценте крысы на 17-е сут развития зародыша, в терминальный период дифференцировки, в ядрах гигантских клеток наблюдаются значительные изменения в характере активности ядерной оболочки. В трофобласте появляются многочисленные складки и глубокие инвагинации ядерной оболочки, которые вместе с участками цитоплазмы вдаются внутрь ядра (Зыбина, 1979в). В периферической части ядра видны овальные или неправильных очертаний цитоплазматические островки, иногда очень большие, ограниченные двойной мембраной и содержащие цитоплазматические органоиды.

Одновременно с пористыми пластинками в ядрах гигантских клеток трофобласта (начиная с 11—12-х сут развития зародыша) можно встретить другие мембранные структуры — внутриядерные трубочки (Зыбина, 1979а, 1979в). Они имеют больший диаметр, чем внутриядерные пористые пластинки, и могут быть представлены единичными трубочками (табл. XXXI, б) или образовывать скопления трубочек, соединенных друг с другом электронно-плотным матриксом (табл. XXXI, в). В некоторых участках к трубочкам примыкает диффузный или конденсированный хроматин. Иногда в трубочках выявляются структуры, напоминающие поровые комплексы, которые несколько отличаются от таковых

ядерной оболочки (табл. XXXI, а, б). Они имеют тот же размер, что и поры ядерной оболочки, однако в них более четко очерчена периферическая часть поры, не содержащая периферических субъединиц, и хорошо различима центральная гранула.

Внутриядерные трубочки, ограниченные элементарной мембраной, встречаются в поверхностной зоне карิโอплазмы, часто обнаруживаются около ядрышка, являясь модификацией пористых пластинок. В последнем случае трубочки контактируют с ядрышком и снаружи окружены гранулами диаметром 15—20 нм, т. е. гранулярным компонентом ядрышка. Центральная часть ядрышка не содержит мембранных структур. Содержимое трубочек электронно-прозрачно и не отличается от такового перинуклеарного пространства. Часть внутриядерных трубочек может контактировать с одной стороны с ядрышком, а с другой — через систему *appulate lamellae* с перинуклеарным пространством.

Скопления трубочек в ядрышке описаны и в других клеточных системах, в частности в ядрах клеток эндометрия человека в секреторную фазу менструального цикла (Terzakis, 1965). «Система канальцев ядрышка» («the nucleolar channel system») состоит из многих трубочек, заключенных в аморфный матрикс и окруженных гранулярным компонентом ядрышка. Трубочки в ядрах клеток эндометрия продолжают от ядрышка до перинуклеарного пространства. На основании этих наблюдений Терзакис (Terzakis, 1965) предположил, что внутриядерные трубочки участвуют в транспорте РНК из ядрышка в цитоплазму.

Роль мембранных структур в процессе фрагментации гигантских ядер. В дифференцированных гигантских клетках трофобласта крысы, начиная с 13-х сут развития, происходит спонтанная фрагментация полиплоидного ядра на множество более мелких ядер. Вначале фрагментация гигантских ядер встречается редко, а на 17—18-е сут уже большое число гигантских ядер находится в процессе деления на фрагменты. Изучение ультраструктуры исходного гигантского ядра во время его деления на фрагменты показало, что ядерная оболочка и ее производные принимают активное участие в этом процессе (Зыбина, 1979б, 1980а). При этом образуются очень глубокие складки ядерной оболочки, разделяющие ядро на несколько долей (табл. XXXII, а). Ядерная оболочка гигантских ядер, находящихся в процессе деления, содержит значительное количество пор как на наружной поверхности ядра, так и в глубоких инвагинациях ядерной оболочки. Не все поры имеют характерное для интерфазных ядер строение — центральную гранулу и периферические субъединицы, в некоторых отсутствуют периферические субъединицы или центральная гранула. Перинуклеарное пространство во время деления ядра в отдельных участках расширено — иногда наружная мембрана отходит от внутренней ядерной мембраны на значительное расстояние, образуя вздутие (табл. XXXII, а). В этих участках утрачиваются поровые комплексы. Языки цитоплазмы проникают в узкие пространства, возникающие между соседними долями ядра. Клетки, в которых наблюдается деление полиплоидного ядра на фрагменты, не являются дегенерирующими; цитоплазма богата рибосомами, около ядра видны многочисленные митохондрии, канальцы и цистерны эндоплазматической сети, элементы аппарата Гольджи.

Фрагментация исходного гигантского ядра на множество более мелких ядер приводит к образованию многоядерной клетки. Вначале все мелкие ядра тесно прилегают друг к другу так, что очертания ядерных оболочек соседних ядер повторяют друг друга и лишь узкие языки цитоплазмы разделяют их. Постепенно ядерные фрагменты отходят друг от друга. Каждый из них окружен ядерной оболочкой, состоящей из двух мембран и содержащей многочисленные поровые комплексы. Хроматин в сформированных ядерных фрагментах конденсирован. Степень конденсации несколько варьирует в разных исходных гигантских ядрах и образующихся фрагментах, она зависит от стадии развития плаценты, дифференцировки клеток и степени фрагментированности ядра.

В начальный период фрагментации, когда только начинается обособление фрагментов, хроматин исходного гигантского ядра деконденсирован (табл. XXXII, а). По мере деления ядра конденсация хроматина возрастает, достигая максимальной степени на заключительных этапах этого процесса.

Многочисленные ядерные фрагменты одного поликарионита имеют одинаковую степень конденсации хроматина (табл. XXXII, б). Каждый ядерный фрагмент содержит ядрышко, ультраструктура которого зависит от степени конденсации хроматина. В крупных фрагментах при меньшей степени конденсации хроматина ядрышко не гомогенно и состоит из гранулярно-фибрилярного и гранулярного компонентов; в ядрышке имеются лакунарные пространства. При значительной конденсации хроматина округлые мелкие ядрышки более гомогенны и состоят из умеренно электронно-плотных фибрилл. В ядерных фрагментах присутствуют продукты активности хромосом: скопления мелких гранул (диаметр 15—20 нм), перихроматиновые гранулы (диаметр 35—40 нм) и фибриллярные ядрышкоподобные тельца.

В части вторичных гигантских клеток трофобласта крысы на 17—18-е сут развития зародыша при изучении на светооптическом уровне встречаются ядра, несколько отличающиеся по своей морфологии от обычных (Зыбина, 1980б): на внутренней поверхности таких ядер имеются либо скопления множества нитевидных выростов ядерной оболочки (табл. XXXIII, б), либо тонкие единичные выросты, лежащие на некотором расстоянии друг от друга (табл. XXVII, а, б). Во всех этих случаях выросты образуются преимущественно на одном полюсе ядра; иногда видно, что их локализация совпадает либо с зоной, где в данный момент наблюдается фрагментация гигантского ядра, либо с участками, расположенными рядом с уже отделившимися фрагментами (табл. XXVII, а).

Изучение явления фрагментации на электронно-микроскопическом уровне показало, что наряду с разделением исходного гигантского ядра при помощи глубоких складок ядерной оболочки в этом процессе могут участвовать, по-видимому, в качестве резервного материала многочисленные мембранные структуры — производные ядерной оболочки. Внутрядерные пористые пластинки располагаются главным образом в периферической части ядра — именно там, где контуры ядра особенно изрезаны (табл. XXXIII, а). Внутрядерные пористые пластинки очень часто переходят в другие мембранные структуры типа трубочек и соединяются с лакунами. Это сопровождается увеличением ширины просвета между двумя мембранами и полной утратой поровых комплексов (табл. XXXIV, б). Единичные внутрядерные пористые пластинки могут проникать в глубь ядра на большое расстояние от его поверхности (табл. XXXIV, а). Как и на более ранних этапах дифференцировки клеток трофобласта, внутрядерные пористые пластинки связаны с хроматином ядра.

В поверхностной зоне кариоплазмы присутствуют и другие структуры — производные внутренней ядерной мембраны. Внутрядерные трубочки имеют различный диаметр; содержимое их электронно-прозрачно (табл. XXXIII, г). Как и внутрядерные пористые пластинки, трубочки связаны с хроматином ядра. Кроме того, в этой же зоне присутствуют полости, которые частично ограничены двумя гладкоконтурными мембранами. В этой же зоне обнаруживаются пакеты поровых комплексов, лежащих вблизи трубочек (табл. XXXIII, в, г). Поровые комплексы тесно прилегают друг к другу и соединены довольно гомогенным матриксом. Они несколько отличаются от поровых комплексов ядерной оболочки: поры непосредственно прилегают друг к другу. В них более отчетливо выявляется центральная гранула, а периферические субъединицы отсутствуют.

Таким образом, внутрядерные мембранные структуры, вначале выполняющие скорее всего функцию увеличения активной поверхности растущего эндополиплоидного ядра, впоследствии принимают участие в процессе компартментализации кариоплазмы, который заходит очень глубоко и приводит в конечном счете к полному разделению исходного гигантского ядра на десятки и сотни более мелких ядерных фрагментов.

У организмов других систематических групп процесс фрагментации ядра (где он имеет место) изучен еще не до конца. Исследование этого процесса ведется на простейших (Райков, 1978, 1982). В качестве уже известных примеров можно привести множественное деление временно полиплоидного ядра у малярийного плазмодия: деление ядра происходит по типу перифери-

ческого почкования, в результате чего, как уже установлено, происходит сегрегация геномов. Сходным образом происходит фрагментация первичного ядра у радиолярий — спумеллярий. При почковании некоторых инфузорий наблюдается множественное деление макронуклеуса, например у *Ephelota*, — здесь также, по всей видимости, имеет место сегрегация геномов.

Ко времени спонтанно протекающей фрагментации ядра гигантских клеток трофобласта, вероятно, уже не содержат политенных хромосом, а становятся полигеномными (Зыбина, 1963а, 1963б; Зыбина и др., 1979). Исходное гигантское ядро в самом начале фрагментации имеет вид интерфазного, впоследствии процесс разделения гигантского ядра сопровождается значительной конденсацией хроматинного материала. По своей ультраструктуре мелкие ядерные фрагменты в гигантских клетках трофобласта представляют собой интерфазные ядра, хроматин которых сильно инактивирован (судя по ультраструктуре хроматина и ядрышка); не исключена возможность, что скопления пристеночного хроматина представляют собой эндохромосомы.

Какие же изменения происходят в ядре гигантской клетки трофобласта во время его разделения путем фрагментации, наблюдаются ли при этом преобразования в ядерной оболочке и хромосомах, сходные с таковыми при митозе? Деление гигантского ядра приводит к образованию многоядерной клетки. Каждый ядерный фрагмент окружен независимой ядерной оболочкой, состоящей из двух мембран и содержащей поры. Для начальных этапов фрагментации характерны присутствие локальных выступов наружной ядерной мембраны, расширение перинуклеарного пространства на значительных участках ядра, утрата поровых комплексов. В конечный период фрагментации ядерная оболочка приобретает обычный вид, число пор увеличивается.

Анализ некоторых литературных данных указывает на то, что в ходе профазы обычного митоза происходят процессы, несколько сходные с теми, которые наблюдаются при фрагментации ядра. Так, например, при делении клеток культуры ткани почки эмбрионов свиньи ядерная оболочка вначале образует складки и лишь в конце профазы распадается (Зацепина и др., 1976). Заслуживает особого внимания и явление прогрессивно протекающей конденсации хроматина во время фрагментации гигантских полиплоидных ядер трофобласта. И в этом отношении имеется некоторое сходство с митозом. Во время митотического деления клеток возникновение складчатости ядерной оболочки происходит одновременно с конденсацией формирующихся митотических хромосом (Зацепина и др., 1976), локальные контакты последних с ядерной оболочкой сохраняются в профазе и до поздней прометафазы.

При фрагментации высокополиплоидного ядра в клетках трофобласта хроматин постоянно находится в контакте с ядерной оболочкой, особенно отчетливо эта связь наблюдается на заключительных этапах фрагментации, когда степень конденсации хроматина достигает наивысшего уровня. Однако при делении ядра путем фрагментации не происходит столь глубоких преобразований в ядерной оболочке, как при митозе — исчезновения поровых комплексов и полного распада самой оболочки. В отличие от митоза, при фрагментации ядра в клетках трофобласта в ядерной оболочке присутствуют многочисленные поры, но их морфология и локализация на ядерной оболочке несколько изменены. Поры отсутствуют в местах локального расширения перинуклеарного пространства, поровые комплексы могут быть лишены центральной гранулы или периферических субъединиц. В ходе фрагментации не нарушаются контакты хромосом с внутренней ядерной мембраной, как это наблюдается в поздней прометафазе и метафазе митоза.

Как показало проведенное сравнение, некоторые этапы фрагментации ядер имеют сходство с процессами, происходящими в профазе митоза. Этим наблюдениям мы придаем большое значение в связи с активной ролью ядерной оболочки в распределении хромосомного материала при делении ядер. Однако изучение этого сложного явления нуждается в дальнейшей тщательной разработке.

В тот период дифференцировки плаценты (17—18-е сут развития), когда в значительной части ядер гигантских клеток трофобласта происходит фрагментация, в некоторых ядрах наблюдается возникновение складчатости на одной

из сторон ядра с одновременным появлением в этой же зоне кариоплазмы значительного количества разнообразных мембранных структур — внутриядерных пористых пластинок, внутриядерных трубочек, скоплений поровых комплексов. Создается впечатление, что накапливающиеся мембранные структуры являются материалом, который, вероятно, потом используется в образовании мембран ядерной оболочки формирующихся мелких фрагментов гигантского ядра.

Во время митотического деления клетки также показано участие пористых пластинок в формировании ядерной оболочки в телофазе. О. В. Зацепина с соавторами (1977), изучая на электронно-микроскопическом уровне ядерную оболочку во время митоза в клетках пыльников пиона древовидного, обнаружила в ранней и средней телофазе в составе мембранных цистерн, не связанных с ядерной оболочкой, многочисленные поры. Стопки мембранных цистерн, пронизанные многочисленными порами, похожие на *annulate lamellae*, присутствуют в анафазе делящейся клетки. Некоторые из цистерн связаны с рибосомами и на значительном протяжении контактируют с поверхностью хромосом. Поры обнаруживаются в составе цистерн эндоплазматической сети, окружающих формирующееся ядро. Они несколько отличаются от пор интерфазного ядра непостоянным размером, отсутствием периферических субъединиц и центральных гранул. Поскольку некоторые из цистерн пористых пластинок контактируют с поверхностью хромосом и повторяют их очертания, авторы полагают, что они участвуют в восстановлении ядерной оболочки в телофазе митоза.

Участие структур, сравнимых с пористыми пластинками, в увеличении обмена между ядром и цитоплазмой и впоследствии в процессе деления ядра описано у *Noctiluca* (*Dinoflagellata*). Двухмембранная оболочка ядра трофозои *Noctiluca* полностью лишена пор. С внутренней стороны к оболочке прилежит множество ампул, отграниченных парными концентрическими мембранами, пронизанными многочисленными порами (Afzelius, 1963). Роль ампул, по мнению автора, состоит в увеличении поверхности ядра, обмен между которым и цитоплазмой осуществляется через ампулы по принципу наподобие шлюза. Детальное изучение пористых ампул, проведенное позднее Суайе (Soye, 1969a, 1969b, 1972), показало, что ампулы представляют постоянные впячивания обеих мембран ядерной оболочки. Автор проследила, что в ходе спорогенеза ампулы постепенно исчезают, «вливаясь» в состав ядерной оболочки. Было показано, что ампулы, сравниваемые Суайе с внутриядерными пористыми пластинками, не только увеличивают активную поверхность ядра, но и представляют собой резерв мембранного материала, потребляемого при многочисленных делениях ядра в ходе спорогенеза.

Несколько иной процесс описан в ходе формирования гамет у фораминиферы *Hastigerina pelagica* (Spindler, Hemleben, 1982). В данном случае образование пачек *annulate lamellae* происходит в цитоплазме. Эти *annulate lamellae* движутся в направлении еще не разделившегося ядра и затем используются при формировании ядерной оболочки многочисленных ядер гамет. Так как деление ядра при гаметогенезе происходит в течение очень короткого периода времени, синтез материала ядерной оболочки является лимитирующим фактором, и заблаговременное формирование *annulate lamellae* в цитоплазме позволяет осуществлять многочисленные последовательные ядерные деления в течение короткого времени — 2,5 ч.

Таким образом, во всех приведенных примерах мы наблюдаем возможность использования мембран *annulate lamellae* (и ядерных, и цитоплазматических) как резервного материала для построения мембран ядерной оболочки в случаях, когда идут интенсивные процессы формирования новых ядер (процессы гаметогенеза и спорогенеза у простейших, фрагментация ядер клеток трофобласта). В случае трофобласта характер активности мембран ядерной оболочки и их производных изменяется в ходе дифференцировки клеток и, вероятно, дифференцировки образований системы внутриядерных пористых пластинок и трубочек служит, по-видимому, для активизации ядерно-цитоплазматических взаимоотношений, то в конечный период они, по всей вероятности, исполь-

зуются как резервный материал в процессах деления исходных гигантских ядер на фрагменты.

Компартментализация цитоплазмы поликариоцитов и ее возможный механизм. Исследование фрагментации ядра в клетках трофобласта на ультраструктурном уровне привело нас к неожиданным результатам: оказалось, что в поликариоците происходит обособление цитоплазматических территорий вокруг ядерных фрагментов, которое осуществляется при помощи мембран — производных ядерной оболочки. В этом случае компартментализация участков цитоплазмы является примером тесной связи ядерной оболочки с органоидами цитоплазмы. Узкие цистерны, отходящие от наружной мембраны ядерной оболочки в цитоплазму, представляют собой гладкую эндоплазматическую сеть, которая в свою очередь участвует в формировании сдвоенных мембран, обособляющих зону цитоплазмы вокруг отдельных ядер или их скоплений внутри поликариоцитов трофобласта. Следует подчеркнуть, что сдвоенные мембраны, окружающие фрагмент одного ядра (рис. 35, 2), оказываются топологически относящимися к двойной ядерной мембране другого ядерного фрагмента (рис. 35, 1). Таким образом, отделившийся участок, включающий фрагмент ядра и зону цитоплазмы, отличается от клетки тем, что он окружен не элементарной, а двойной мембраной, т. е. топологически пространство между мембранами, окружающими этот фрагмент клетки, по-видимому, может относиться к перинуклеарному пространству другого ядра, если не возникает сообщения с экстрацеллюлярным пространством.

Интересно отметить, что на плоских цистернах гладкой эндоплазматической сети возникают десмосомоподобные структуры. Вероятно, процессы обособления таких участков вокруг ядерных фрагментов и отделение их друг от друга при помощи цистерн эндоплазматической сети происходят постепенно: сначала цитоплазматические территории обособляются вокруг целых скоплений ядерных фрагментов (рис. 35; табл. XXXV, а); по мере расхождения последних друг от друга и рассеивания их по цитоплазме поликариоцита происходит выделение цитоплазматических зон и вокруг отдельных ядер (табл. XXXV, б; XXXVI, а).

В конечный период фрагментации клетки трофобласта представляют собой поликариоциты, в которых каждое из мелких ядер окружено небольшой зоной цитоплазмы (табл. XXXV, б). Морфология и характер распределения органоидов цитоплазмы внутри компартментов мало отличаются от таковых в обычных интерфазных ядрах. Локализация органоидов цитоплазмы в компартментах варьирует и зависит от формы ядра и ширины цитоплазматической зоны, окружающей его. Цитоплазматические органоиды рассеяны по всей околоядерной зоне, большая часть их сосредоточена около вогнутой поверхности ядра или на одном из полюсов обособленной зоны. Цитоплазма содержит значительное количество рибосом, что свидетельствует о том, что способность к синтезу белка еще не утрачена. Гранулярная эндоплазматическая сеть имеет вид небольших каналов. Несколько изменен аппарат Гольджи: его цистерны расширены в большей или меньшей степени (табл. XXXVI, а). Многие митохондрии располагаются в непосредственном соседстве с ядром; они содержат умеренно развитые кристы. В цитоплазме наряду с интактными присутствуют и измененные митохондрии, почти не содержащие крист, или темные, заполненные электронно-плотным содержимым.

Таким образом, на примере обособления цитоплазматических территорий в клетках трофобласта можно проследить всю динамику экспансии наружной ядерной мембраны в глубь цитоплазмы путем своеобразного «блеббинга» — преобразования ее выростов в цистерны эндоплазматической сети, которые в свою очередь идут на формирование сдвоенных плоских мембран, обособляющих цитоплазматические зоны вокруг ядерных фрагментов.

Обособление клеточных территорий вокруг отдельных ядер в поликариоцитах, оказывается, имеет аналогии в клетках других организмов. Ультраструктурное изучение фрагментации ядер в клетках надпочечника лягушки (Pehlmann, 1968) показало, что образование плазмалеммы между двумя дочерними клетками происходит в результате агрегации канальцев эндоплазматической сети. Представляют интерес данные о строении ядерных комплексов

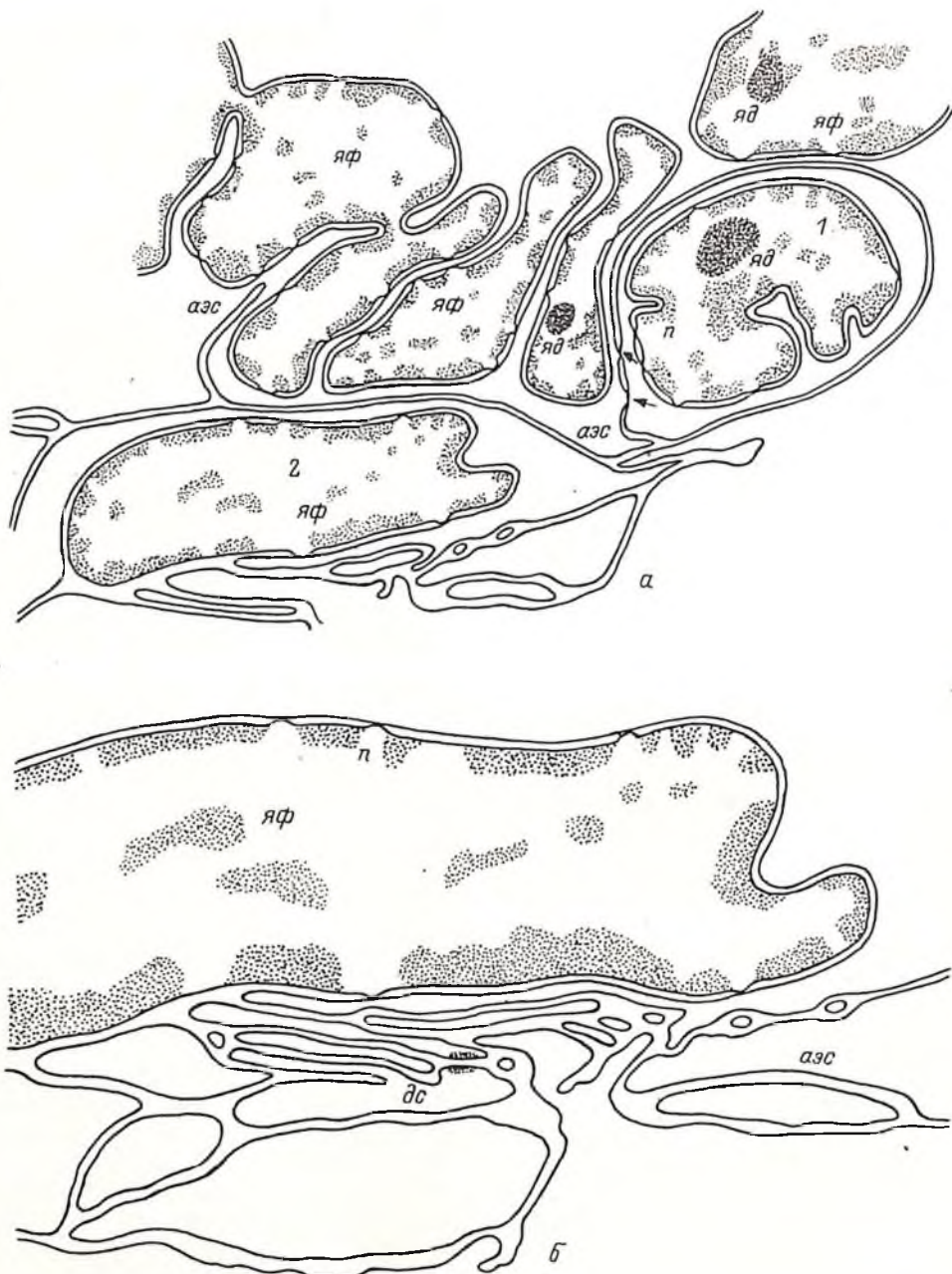


Рис. 35. Схематическое изображение формирования плазматической мембраны при обособлении небольших клеточных территорий внутри цитоплазмы многоядерной гигантской клетки трофобласта.

а — топографическое взаиморасположение ядерных фрагментов (1) внутри компартментов, образованных производными ядерной оболочки лежащего рядом ядерного фрагмента (2). *б* — взаимоотношения между выростами наружной ядерной оболочки ядерных фрагментов и цистернами агранулярной эндоплазматической сети (аэс); яф — ядерные фрагменты, яд — ядрышко, дс — десмосомоподобные структуры, п — ядерные поры; стрелка показывает сужение цистерн гладкой эндоплазматической сети.

у низших инфузорий (Райков, Ковалева, 1977; Ковалева и др., 1979). У многих инфузорий, представителей рода *Tracheloraphis*, прослеживается объединение ядерного аппарата в один ядерный комплекс, состоящий из нескольких периферически расположенных макронуклеусов и центрально лежащих микронуклеусов. Ядерный комплекс охвачен лакунами гладкой эндоплазматической сети. Его проксимальная мембрана прилегает к внешним поверхностям всех макронуклеусов, а также дает впячивания в промежутки между отдельными макронуклеусами. Внутри ядерного комплекса у *Tracheloraphis totevi* вокруг макронуклеусов располагаются спаянные попарно агранулярные мем-

браны, они сопровождают каждая свой макронуклеус и, по всей вероятности, обеспечивают плотное склеивание краев между соседними макронуклеусами (Ковалева и др., 1979). Эта мембранная система принадлежит гладкой эндоплазматической сети. Образование ядерного комплекса создает своего рода внутреннюю среду в его центральной полости. Такое обособление, по-видимому, должно влиять на процессы ядерно-цитоплазматического взаимодействия и их регуляцию.

Аналогия между способами отделения участков цитоплазмы около ядер гигантских клеток трофобласта и вокруг макронуклеусов инфузорий заключается в следующем. В обоих случаях обособление происходит тогда, когда ядра низкополиплоидны или диплоидны, но в то же время не способны к делению. Образование цитоплазматического компартмента осуществляется с помощью сдвоенных мембран гладкой эндоплазматической сети, которые никогда не несут рибосом. Функциональное значение обособления участков цитоплазмы вокруг ядерных фрагментов в трофобласте пока неясно. Поликарпициты, так же как одноклеточные гигантские клетки трофобласта, еще довольно активно синтезируют РНК (Зыбина, 1963б) и на исследуемой стадии не обнаруживают признаков дегенерации.

Пройдя процесс фрагментации, клетки трофобласта продолжают функционировать еще в течение нескольких суток; они дегенерируют незадолго до конца беременности. Происходит ли при этом обособление участков цитоплазмы вплоть до полного их отделения от цитоплазмы многоядерной клетки, пока неизвестно.

В цитоплазме обособляющихся клеточных территорий трофобласта было обнаружено присутствие пучков микрофибрилл (диаметр микрофибрилл 10 нм), которые хорошо развиты в конечный период фрагментации ядра во время или после обособления компартментов в цитоплазме многоядерной гигантской клетки трофобласта. Микрофибриллы одним концом всегда связаны с наружной ядерной мембраной, тогда как другой конец контактирует с мембранными органоидами цитоплазмы. В том случае, когда микрофибриллы располагаются в цитоплазме около впаивания ядерной оболочки внутрь ядра, можно предположить, что их сокращение способствует перетягиванию ядра надвое и его последующему разделению. Сходный процесс был описан Пелманом (Pehlmann, 1968) в случае с фрагментацией клеток надпочечника лягушки: ядро удлиняется и вокруг его центральной части образуется циркулярное сужение. Центриольный аппарат образует микротрубочки и микрофиламенты, которые кольцом окружают ядро в области сужения и, сокращаясь, участвуют в перетягивании его надвое. Но в отличие от трофобласта, микротрубочки и микрофибриллы в клетках надпочечника не прикрепляются к ядерной мембране. В случае трофобласта не исключена возможность, что микрофибриллы способствуют растяжению ядра в ходе фрагментации, прикрепляясь с одной стороны к наружной ядерной мембране, а с другой — к мембранным компонентам клетки (табл. XXXVI, б, в).

Функциональное значение наблюдаемых нитей тем более неопределенно, что в настоящее время считается вероятной гетерогенность класса так называемых промежуточных, т. е. с диаметром около 10 нм, филаментов (Bennett et al., 1978; Gypson, Anderson, 1978). Прежний взгляд о возможности преобладания тубулина в таких нитях (Wisniewski et al., 1968; Holtrop et al., 1974) не находит подтверждения. Показано, что в разных типах клеток филаменты диаметром около 10 нм могут состоять как из десмина (Lazarides, 1978), так и из белков другого типа, в частности актиноподобных (Fuseler et al., 1978). Цитоскелетная роль подобных нитей не менее вероятна, чем их отношение к сокращению (Зыбина, Румянцев, 1980).

На наш взгляд, интересные данные представлены в работе Нутти Ронхи с соавторами (Nuti Ronchi et al., 1973). Он обнаружил явление фрагментации ядер с образованием многоядерных клеток в каллусе табака *Nicotiana glauca*. При использовании метода автордиографии после воздействия на культуру колхицином было показано, что многоядерные клетки появляются в каллусе через 120 ч после начала его культивирования не вследствие митотической активности клеток каллуса, а в результате фрагментации ядер. Было обнаружено,

что длительная (в течение 8—12 ч) обработка ткани каллуса колхицином полностью блокировала образование многоядерных клеток и рост эксплантата. Это наблюдалось в том случае, когда колхицин добавлялся непосредственно перед делением ядер путем фрагментации. Нутти Ронхи с соавторами объяснил это явление тем, что, по-видимому, микротрубочки, сходные с микротрубочками митотического аппарата, необходимы и для такого деления. Длительное воздействие колхицина в данном эксперименте разрушает структуры типа микротрубочек, которые, возможно, принимают участие в процессах деления ядер путем фрагментации. Эти факты являются, видимо, еще одним подтверждением в пользу того, что структуры типа микротрубочек и микрофиламентов играют определенную роль в процессе фрагментации ядер, однако конкретное значение микрофиламентов в гигантских клетках трофобласта, встречающихся во время деления полиплоидного ядра, пока неизвестно.

Глава 9

ВОЗМОЖНОЕ БИОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ПОЛИПЛОИДИИ И ДРУГИХ ЦИТОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ КЛЕТОК ТРОФОБЛАСТА И DECIDUA

Взаимосвязь между фагоцитозом и репродукцией хромосомного материала

Результаты проведенного нами исследования динамики полиплоидизации ядер первичных и вторичных гигантских клеток трофобласта свидетельствуют о том, что имеется синхронность между фагоцитарной активностью и ростом эндополиплоидной клетки. Репродукция ДНК в первичных гигантских клетках трофобласта крысы наблюдается начиная с момента внедрения зародыша (Заварзин, 1967; Зыбина, Грищенко, 1970). Во вторичных гигантских клетках трофобласта активный синтез ДНК имеет место несколько позднее: на 10—14-е сут развития плаценты, после чего он постепенно уменьшается и к 17-м сут обнаруживается лишь в единичных ядрах (Atlas et al., 1960; Зыбина, 1963б; Андреева, 1964; Jollie, 1964; Заварзин, 1967), т. е. практически прекращается. Фагоцитарная активность вторичных гигантских клеток трофобласта, как показали наши исследования и наблюдения других авторов, проявляется в этот же интервал времени — с 10-х по 15-е сут развития (Зыбина, 1958а; Dickson, Bulmer, 1960; Зыбина, Тихомирова, 1963; Jollie, 1965).

Синхронность между фагоцитарной активностью и репродукцией хромосом отчетливо выявляется при сравнении первичных и вторичных гигантских клеток, поскольку продолжительность и периоды максимальной фагоцитарной активности у них весьма различны. У первичных гигантских клеток интенсивный фагоцитоз отмечен с 7-х по 11-е сут. Именно в этот период наблюдается интенсивная полиплоидизация первичных гигантских клеток трофобласта (по данным карнометрии — по: Зыбина, Тихомирова, 1963). Только за 1 сут (с 6-х по 7-е) ядра претерпевают четыре раунда репликации ДНК, вследствие чего степень плоидности возрастает от 4с до 32с, а на 11-е сут достигает 128с.

Во вторичных гигантских клетках фагоцитарные свойства, слабо выраженные вначале, усиливаются на 10—11-е сут, когда эктоплацентарный конус начинает вращаться в decidua basalis, и сохраняются на высоком уровне в последующие несколько суток (до 14-х). В этот же период степень полиплоидии ядер гигантских клеток трофобласта быстро увеличивается с 4с (на 9-е сут) до 256с (на 14-е сут) и более замедленно нарастает в последующие 4 сут (до 512—1024с на 18-е сут).

Таким образом, обнаруживается тесная корреляция между временем проявления инвазивных и фагоцитарных свойств и быстро протекающей полиплоидизацией гигантских клеток трофобласта.

На наш взгляд, гигантские размеры клеток трофобласта, являющиеся следствием перехода их ядер на цикл эндорепродукции, могут иметь значение при фагоцитировании большого количества распадающихся материнских клеток. В этой связи представляет интерес то обстоятельство, что популяции клеток трофобласта, не способные к фагоцитарной активности (третичные гигантские клетки, клетки соединительной зоны плаценты крысы), не достигают столь больших размеров и уровней плоидности (Зыбина, Грищенко, 1970; Зыбина и др., 1975а).

Многообразие способов репродукции клеток трофобласта и необратимый характер их дифференцировки

Столь же тесная взаимосвязь между способностью клеток трофобласта к инвазии и фагоцитозу и способом их репродукции обнаруживается и при сравнении различных клеточных популяций трофобласта в развивающейся плаценте.

На рис. 36 показано соотношение механизмов репродукции хромосомного материала в различных отделах плаценты крысы. Видно, что клетки соединительного отдела плаценты способны сохранять камбиальные свойства. Как показали наши наблюдения, в плаценте крысы клетки трофобласта этой зоны продолжительное время интенсивно делятся митозом, затем количество митозов резко падает (на 15-е сут развития), и на 16-е сут митозы уже не встречаются. За 2 сут до полного прекращения митотической активности характер митозов меняется — они становятся полиплоидизирующими. В результате полиплоидизации путем незавершенных митозов ядра клеток достигают степени плоидности в среднем 4—8с. Хотя митотическая активность к 16-м сут практически прекращается, синтез ДНК происходит еще в течение 3 сут (Зыбина, 1963б; Андреева, 1964), что свидетельствует о протекающих процессах эндоредупликации хромосом; в результате уровень плоидности клеток достигает 16—32с (Зыбина, 1981в).

Таким образом, важной особенностью механизма репродукции хромосом в клетках трофобласта соединительного отдела плаценты является способность процесса репродукции переключаться от одного способа полиплоидизации к другому, а именно от незавершенного ацитокинетического или реституционного митоза к эндоредупликации (Зыбина, 1981в; Зыбина и др., 1984б, 1984в).

Сходный механизм полиплоидизации наблюдается и в третичных гигантских клетках трофобласта крысы. Уровень полиплоидии ядер в этом случае в терминальный период их дифференцировки не достигает максимально высоких степеней и составляет лишь 16—32с.

Интересно, что возможность перехода от одного механизма полиплоидизации к другому, а именно от «истинной» полиплоидии к эндоредупликации, описана пока только в одном случае у млекопитающих, а именно в трофобласте грызунов. Имеются лишь указания на то, что подобный переход может осуществляться в клетках суспенсора фасоли (Nagl, 1970b) и в слюнных железах мушки *Contarinia pirivora* (Cassagnau, 1970). Редкость обнаружения такого явления объясняется, возможно, не только его уникальностью, но и недостаточной изученностью механизмов умножения генома в различных органах и тканях животных и растений.

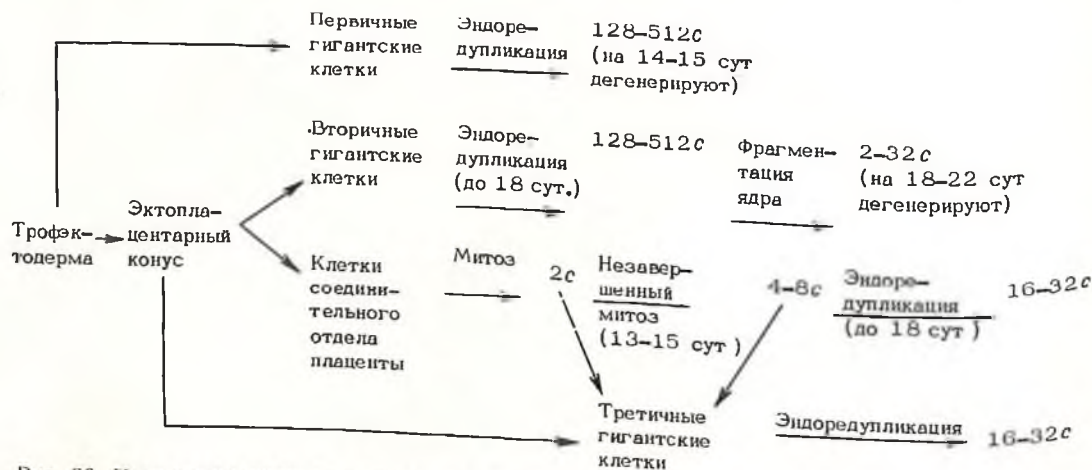


Рис. 36. Пути полиплоидизации различных популяций гигантских клеток трофобласта плаценты крысы.

Эндоредупликация свойственна всем клеткам в изученных популяциях трофобласта грызунов (рис. 36). В первичных и вторичных гигантских клетках трофобласта, которые вступают в цикл эндоредупликации и политенизации с начала своего обособления, ядра достигают уникальных для тканей млекопитающих уровней полиплоидии — 128—2048с. Напротив, в тех популяциях, где имеет место переход от одного способа полиплоидизации к другому, степень полиплоидии ядер сравнительно невысока и составляет 16—32с. Таким образом, в пределах нескольких клеточных популяций трофобласта, имеющих общее происхождение, репродукция хромосомного материала осуществляется разными способами. Клеткам трофобласта соединительной зоны плаценты и третичным гигантским клеткам свойствен способ полиплоидизации, характерный для большинства млекопитающих — ацитокинетический полиплоидизирующий митоз (Бродский, Урываева, 1981), а ядра первичных и вторичных клеток трофобласта претерпевают политенизацию подобно некоторым тканям беспозвоночных животных и растений.

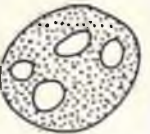
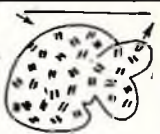
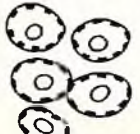
Как известно, при достижении клетками высоких уровней полиплоидии они полностью утрачивают способность возвращаться на цикл митоза и пополнять популяции диплоидных клеток (Бродский, Урываева, 1977; Nagl, 1970b, 1978). Дифференцировка таких клеток часто бывает необратимой. Поэтому эндоредупликация, приводящая к высокой степени умножения генома, чаще всего характерна для тканей с четкой программой развития, которые в большинстве своем встречаются в клетках беспозвоночных животных и растений.

Клетки трофобласта как раз и являются ярким примером такой необратимой дифференцировки у млекопитающих. Особый интерес представляет судьба вторичных гигантских клеток трофобласта, которые в терминальный период дифференцировки претерпевают фрагментацию ядер на множество мелких ядер меньшей степени плоидности (Зыбина, 1963а; Зыбина, Тихомирова, 1963; Зыбина и др., 1979). Процесс фрагментации, однако, не имеет отношения к процессам пролиферации и пополнения популяций диплоидных клеток (рис. 36, 37); поскольку разделение гигантских ядер на фрагменты претерпевают клетки, полностью утратившие способность к репродукции хромосом, и ядерные фрагменты не синтезируют ДНК (Зыбина, 1963б).

Гигантские клетки трофобласта являются удивительным примером клеточной популяции, которая имеет короткую продолжительность жизни, генетически детерминированную и ограниченную временем нормального существования плаценты; для этих клеток характерна запрограммированная клеточная смерть (Jollie, 1960; Dorgan, Schultz, 1971). Последнее было показано в опытах по трансплантации плаценты крысы в различные органы: в печень, под капсулу почки, в мезентерий генитального тракта (Jollie, 1960). Несмотря на различную степень пролиферации гигантских клеток трофобласта крысы в различных органах, время их существования везде оказалось постоянным. Во всех случаях продолжительность жизни этих клеток (до времени дегенерации) равнялась 22 сут. Если пересаживали трофобласт 12-суточной плаценты, гигантские клетки переживали в новых условиях еще 10 сут; если же пересаживали клетки от 14-суточного зародыша, то они продолжали существовать еще 8 сут. Было показано, что продолжительность жизни трофобласта не зависит не только от окружающих тканей хозяина, но и от гормонального влияния его тканей, а также от пола и возраста. Так, при пересадке трофобласта 12-суточной плаценты половозрелым самцам гигантские клетки остаются жизнеспособными в течение еще 10 сут (Jollie, 1960). Такая же продолжительность жизни гигантских клеток трофобласта крысы была обнаружена при культивировании клеток в условиях *in vitro* (Dorgan, Schultz, 1971).

Анализ литературных данных свидетельствует о том, что строго детерминированными являются и многие другие свойства клеток трофобласта, например способность к инвазии и фагоцитозу распадающихся материнских тканей. Это свойство может проявляться как при нормальной имплантации, так и в случае трансплантации бластоцисты в другие органы. Именно гигантские клетки трофобласта устанавливают тесную связь с окружающими их тканями, инвазируют ткани хозяина и способны пролиферировать в них

Цикл структурных преобразований ядра в онтогенезе гигантских клеток трофобласта

Состояние ядра	Морфология ядра	Структура хромосом	Тельца Барра	Синтез ДНК	Состояние ЯК организатора	Преобладающие продукты активности хромосом
Политенизация		Сетчатое ядро. Соединение хромонем у ЯК	Четкие	Происходит, S-фаза	Максимальное развитие ГК. ПнХ деконденсирован. ФЦ отчетливо выявляется	Интерхроматиновые гранулы, ЯПТ гранулярнофибриллярные
		Пучки политенных хромосом	Четкие, более конденсированные	Отсутствует, G-фаза	Уменьшение ГК. ПнХ конденсирован. ФЦ выявляется менее отчетливо	Интерхроматиновые гранулы, ЯПТ гранулярнофибриллярные. Перихроматиновые гранулы, ЯПТ фибриллярные
Завершение политенизации		Сетчатое ядро. Соединение хромонем у ЯК	Менее отчетливые	Происходит в единичных ядрах	Резкое уменьшение ГК. ПнХ деконденсирован. ФЦ выявляется менее отчетливо	Интерхроматиновые гранулы. ЯПТ гранулярнофибриллярные
		Хроматин частично конденсирован	Менее отчетливые	Отсутствует	ГК незначителен или отсутствует. ПнХ конденсирован. ФЦ отчетливо выявляется	Интерхроматиновые гранулы. ЯПТ гранулярнофибриллярные. Перихроматиновые гранулы. ЯПТ фибриллярные. ЯПТ типа coiled body. Ядерные тельца
Полигеномное ядро		Попарно расположенные эндохромосомы	Не выявляются	Отсутствует	Не изучено	Не изучено
Фрагментация ядра		Пристеночная локализация конденсированного хроматина	Иногда выявляются	Отсутствует	ГК незначителен или отсутствует. ПнХ конденсирован	Интерхроматиновые гранулы. ЯПТ фибриллярные

ЯК ядрышко, ГК гранулярный компонент, ФЦ фибриллярный центр, ПнХ перинуклеоларный хроматин, ЯПТ ядрышкоподобные тельца

даже независимо от развития собственно зародыша (Fawcett et al., 1947; Runner, 1947; Grobstein, 1950; Kirby, 1960, 1963; McLaren, Tarkowski, 1963), причем и при трансплантации они остаются фагоцитами (Fawcett et al., 1947; Porter, 1967).

Запрограммировано также число циклов эндоредупликации хромосом. Как в случае нормальной имплантации, так и при трансплантации бластоцисты под капсулу почки небеременной самки клетки трофобласта интенсивно растут и, как показывают данные цитоспектрофотометрии, их ядра достигают того же уровня полиплоидии — 32—512с (Barlow, Sherman, 1972). Эти результаты совместно с данными по нормальному развитию трофобласта свидетельствуют о том, что количество циклов репликации в ядрах гигантских клеток трофобласта генетически обусловлено и составляет в среднем 6—11 циклов репликации, но только при условии если трофобласт фагоцитирует распадающиеся клетки окружающих тканей (Зыбина, Тихомирова, 1963; Зыбина, 1976а, 1976б; Зыбина, 1981в).

Следует отметить, что некоторые свойства клеток трофобласта в определенной степени зависят от внешних условий. Так, например, в случае культивирования бластоцисты мыши *in vitro*, когда возможности фагоцитоза, по-видимому, весьма ограничены, полиплоидизация клеток трофобласта завершается после прохождения меньшего количества раундов редупликации (два-четыре), чем в нормальных условиях (шесть-восемь). Это в свою очередь еще раз свидетельствует о существовании тесной корреляции между способностью клеток трофобласта к фагоцитозу и числом циклов эндоредупликации хромосом. На такую взаимосвязь указывают и приведенные нами выше данные о совпадении продолжительности проявления гигантскими клетками трофобласта инвазивных и фагоцитарных свойств с периодом многократного умножения генома в этих клетках (Зыбина, 1976а, 1976б, 1981а). В этом смысле обращает на себя внимание то, что высокая степень умножения генома характерна лишь для тех популяций трофобласта, которые в норме являются активными фагоцитами (первичные и вторичные гигантские клетки).

Подытоживая рассмотренные факты, можно отметить, что для гигантских клеток трофобласта характерна очень высокая степень запрограммированности многих свойств. Запрограммированы переход от митотической активности многих свойств. Запрограммированы переход от митотической активности к эндоредупликации и многократное умножение генома (Зыбина, 1961, 1964, 1970); продолжительность и количество циклов репликации (Заварзин, 1967; Зыбина, 1963а, 1970; Barlow, Sherman, 1972; Nagl, 1972b; Зыбина и др., 1973, 1975а, 1975б); длительность проявления инвазивных и фагоцитарных свойств этих клеток (Зыбина, Тихомирова, 1963; Зыбина, 1976а, 1976б; Jollie, 1965), подтвержденная в культуре (Salomon, Sherman, 1975); запрограммированы продолжительность жизни клеток и клеточная смерть (Jollie, 1960; Dorgan, Schultz, 1971).

Значение полиплоидии и особой программы развития клеток трофобласта

В настоящее время имеются различные предположения о возможной биологической выгоды многократного умножения геномов в одной клетке (Бродский, Урываева, 1977, 1981; Урываева, 1979; Nagl, 1974, 1978; Tschermak-Woess, 1963, 1971). В основе полиплоидизации, как уже говорилось, лежит сокращение митотического цикла, выпадение большего или меньшего числа его стадий. Так, при эндоредупликации, когда происходит полное выпадение митоза, синтез РНК не прерывается, как это имеет место при митотическом цикле, — клетка непрерывно увеличивает синтез РНК и белка (Nagl, 1973с; Clutter et al., 1974). Это в свою очередь способствует быстрому росту клеток и их быстрой дифференцировке, которая особенно важна для высокоактивных

Рис. 37. Циклы структурно-функциональных преобразований полиплоидного ядра в трофобласте грызунов. Циклические изменения структуры хромосом, ядрышка и других компонентов ядра в ходе полиплоидизации, при завершении полиплоидизации и при фрагментации ядра.

клеток, находящихся в составе тканей и органов с небольшой продолжительностью жизни, таких, например, как питающие клетки подвеска у растений (Nagl, 1978) и трофобласты в овариях насекомых (King, Burnett, 1959; Basile, 1963); то же самое можно сказать и о трофобласте грызунов (Зыбина, 1963б). В таких случаях умножение массы клеток и их дифференцировка, вероятно, протекают одновременно, при этом клетки очень рано становятся дифференцированными. Например, питающие клетки растений (гаусторий, суспensor) и клетки трофобласта в плаценте грызунов, которые с начала обособления вступают на путь эндоредупликации, начинают намного быстрее и раньше функционировать по сравнению с тканями собственно зародыша, находящегося на очень ранней стадии пролиферации (Nagl, 1978; Зыбина, 1981в). Эндоредупликация позволяет этим тканям накопить большую клеточную массу и в то же время очень рано начать осуществление специфических функций.

Уже отмечалось, что политения присуща органам и тканям, которые характеризуются быстрым ростом в течение короткого, строго ограниченного промежутка времени (Бродский, Урываева, 1981). К примеру, развитие личинки у *Drosophila melanogaster* занимает около недели. За это время происходит быстрое формирование и функционирование различных провизорных органов, в том числе слюнных желез. В. Я. Бродский и И. В. Урываева (1981) обращают внимание на то, что быстрый рост провизорных тканей у личинки серой мясной мухи *Sarcophaga*, по-видимому, возможен лишь за счет укороченного клеточного цикла, поскольку в этом случае цикл политенного ядра занимает всего 6—8 ч (Roberts et al., 1974), в то время как полный митотический цикл в столь дифференцированных клетках был бы по меньшей мере в два раза длиннее и прохождение того же числа репликаций ДНК было бы невозможно. Аналогично в гигантских клетках трофобласта мыши наблюдается значительное сокращение продолжительности клеточного цикла (почти в два раза по сравнению с популяциями клеток, делящихся митозом). На 8-е сут развития весь цикл ядра составляет около 7 ч (Заварзин, 1967). Именно эти клетки в данный период характеризуются наивысшей инвазивной и фагоцитарной активностью, вероятно, в связи с тем что они ответственны за нормальное протекание имплантации.

В этом случае особое значение приобретает такая уникальная особенность клеток трофобласта, как высокая степень запрограммированности многих их свойств. Плацента является провизорным органом, имеющим строго определенную продолжительность жизни, соответствующую общей длительности беременности. Поэтому вся сложная последовательность событий, происходящих при имплантации и формировании плаценты, является связанной с четко зафиксированными временными параметрами. Первичные, вторичные и третичные клетки трофобласта, вероятно, имеют четкую эволюционно закрепленную программу развития.

Для некоторых специальных клеточных типов полиплоидизация может служить способом предохранения клетки от серьезных наследственных изменений (Урываева, 1979). В этом случае полиплоидия предохраняет клеточную популяцию от гибели, которая возможна при возникновении большого числа хромосомных aberrаций.

Некоторые органы и ткани, вероятно, более, чем другие, подвержены действию повреждающих факторов, которые могут повлечь за собой изменения в наследственном аппарате. Таким органом может быть, к примеру, печень позвоночных, клетки которой постоянно подвергаются воздействию различных токсических веществ (Урываева, 1979). Клетки трофобласта и децидуальные клетки наряду с трофической выполняют и защитную функцию, поскольку и те, и другие являются барьером, разделяющим два до некоторой степени генетически чужеродных организма. В ходе имплантации и плацентации клетки трофобласта и децидуальные клетки приходят в тесный контакт, при котором они часто повреждаются; при этом повреждения, вероятно, могут затрагивать и хромосомный аппарат. В камбиальном отделе плаценты крысы довольно часто встречаются аномальные митозы, хромосомные мосты и отставания хромосом (Зыбина, 1981в; Зыбина и др., 1984в).

Можно думать, что первичные, вторичные и третичные гигантские клетки,

непосредственно граничащие с децидуальными клетками, еще более подвержены повреждению, чем клетки камбиального отдела, тем более что часть их действительно погибает. Тем не менее основная масса этих клеток остается жизнеспособной и активной на протяжении длительного времени. Вероятно, многократное дублирование генома путем эндоредупликации предохраняет клетку от нежелательного эффекта изменений в наследственном аппарате. Особое значение это может иметь для клеток, фагоцитирующих материнские ткани. В настоящее время имеются литературные данные о том, что при введении в организм чужеродной ДНК может повышаться частота возникновения мутаций (Гершензон и др., 1975). Хромосомный материал фагоцитируемых материнских клеток является до некоторой степени генетически чужеродным по отношению к таковому в клетках трофобласта, и вполне вероятно, что вследствие этого частота мутаций в клетках трофобласта может повышаться.

С этой точки зрения кажется возможным существование зависимости между способом полиплоидизации и способностью или неспособностью клеток трофобласта к фагоцитозу. Как правило, клетки, способные фагоцитировать не только безъядерные эритроциты материнской крови, но также и клетки, содержащие ядро: децидуальные, эпителиальные, эндотелиальные и лейкоциты — переходят на цикл эндоредупликации, который протекает без растворения ядерной оболочки. Следовательно, контакта двух различных геномов не происходит. Только у полевок мы обнаружили фагоцитоз в делящихся митозом клетках соединительного отдела плаценты. В этом случае клетки трофобласта способны фагоцитировать только безъядерные эритроциты.

Вероятно, такой способ клеточной репродукции, при котором не происходит растворения ядерной оболочки (в данном случае эндоредупликация), в большей степени предохраняет хромосомный аппарат от возможного воздействия проникшей в клетку ДНК материнского организма. В тех популяциях клеток, которые фагоцитируют лишь безъядерные элементы крови, возможно, сохранился митоз как способ репродукции клеток. Однако и здесь хромосомные нарушения встречаются довольно часто (Зыбина, 1976б, 1981в).

На снижение несовместимости двух генетически различных организмов направлен и другой биологический механизм защиты, о котором мы говорили в гл. 2. Инактивация некоторых генов отцовского хромосомного набора, проявляющаяся в предпочтительной аллоэлиции X-хромосомы отцовского происхождения, возможно, способствует снижению иммунологической несовместимости материнского и зародышевого организма.

Примеры, иллюстрирующие защитную роль полиплоидных клеток

В пользу защитной роли полиплоидии в плаценте млекопитающих свидетельствует и то, что в природе имеется еще один яркий пример образования полиплоидных клеток на границе тесного контакта двух чужеродных организмов — это случаи паразитизма. Глубокое функциональное сходство между взаимоотношениями матери и плода и паразитизмом было замечено еще русским зоологом В. А. Фаусеком в начале нашего века (Фаусек, 1903, 1913). Фаусек ставил задачу как эволюционист: выяснить происхождение и сущность живорождения. При этом он основывался на литературных данных по плацентации у млекопитающих и сопоставлял их со своими наблюдениями по развитию паразитической личинки беззубки *Anodonta* — глосидии.

Живорождение и связанное с ним питание зародыша автор сводит к широкому биологическому явлению — паразитизму. Возникновение такого сложного временного образования, как плацента, Фаусек объясняет с тех же позиций. Зародыш оказывает раздражающее действие на слизистую оболочку матки, что приводит к разрастанию последней с ее железами и кровеносными сосудами. Постепенно такой «паразитизм» становится все более совершенным: первоначально зародыш вызывает лишь усиленное выделение веществ, потребляемых для питания («маточное молоко»), на дальнейшей ступени своего развития зародыш разрушает материнские ткани в тех местах, где он прилегает

к ним, ворсинки хориона пронизывают кровеносные сосуды, что приводит в свою очередь к кровоизлияниям, в результате которых материнская кровь непосредственно омывает зародыш. Проводя аналогию между живорождением и паразитизмом, Фаусек указывает на то, что в восходящем ряду млекопитающих с точки зрения развития плаценты все более возрастает агрессивная роль зародыша по отношению к стенке матки (Фаусек, 1903).

Возникшая позднее и существующая по настоящее время классификация плацент у млекопитающих (Жемкова, 1956) основана на представлениях о глубине проникновения хориона в слизистую оболочку матки и о степени контакта со все более глубокими слоями эндометрия. В зрелой плаценте хорион может соприкасаться с эпителием (эпителиохориальный тип плаценты), соединительной тканью (синдесмохориальный тип), эндотелием сосудов (эндотелиохориальный тип) и, наконец, с плазмой жидкой крови (гемохориальный тип).

В случаях настоящего паразитизма, как оказалось, также возникают клеточные популяции вспомогательного характера, благодаря которым (как и в плаценте млекопитающих) становится возможным совместное существование чужеродных организмов. Хорошо известно, что личинки некоторых видов насекомых, паразитирующих в растительных тканях, вызывают их разрастание — галлы. В ответ на присутствие паразита клетки ткани хозяина претерпевают серию делений и определенную дифференцировку, что приводит к глубоким морфологическим изменениям той части органа, в которой паразитирует личинка. В то же время клетки галлов выполняют трофическую функцию. Они часто содержат эндополиплоидные ядра значительно более высокой степени плоидности, чем эти же ткани, не содержащие паразита (Hesse, 1968, 1969). Так, например, клетки листа дуба в норме имеют диплоидные ядра, тогда как в галлах, развивающихся на листьях дуба под влиянием личинок осы *Anobricus marginalis*, большинство ядер имеет степень плоидности 128—512с. Галлы, возникающие под влиянием клещей, также содержат эндополиплоидные ядра несколько меньшего уровня плоидности, чем у галлов, вызванных осами. Наивысшей степени плоидности — 4096с — достигают ядра галлов, вызванных личинками *Mayetiola roae* (Diptera) в клетках мятлика *Poa nemoralis* (Hesse, 1969).

Галловые клещи в тканях винограда, сливы и других растений вызывают образование гигантских многоядерных клеток, полиплоидизация которых осуществляется путем реституции (Hesse, 1971). Возможно, что индукция полиплоидизации происходит под действием веществ, выделяемых личинками, и уровень полиплоидии зависит от количества проникающих в клетку хозяина веществ. Во многих галлах часто наблюдается некоторый градиент уровня полиплоидии в зависимости от степени удаления клеток хозяина от личинки. Об этом же свидетельствует и тот факт, что число присутствующих личинок влияет на степень плоидности: в галлах листьев выюнка *Convolvulus sahariensis* плоидность варьирует от 32с до 512с в зависимости от числа личинок (Hesse, 1972).

Сходные процессы наблюдаются, вероятно, и при развитии децидуальной реакции в слизистой оболочке матки под влиянием имплантирующегося зародыша. В этом случае также наблюдается «градиент плоидности»: децидуальные клетки и их ядра, непосредственно прилегающие к зародышу и имплантационной камере, имеют максимальные размеры, в то время как клетки, лежащие ближе к периферии эндометрия, имеют меньшую величину (Зыбина, 1958а; Жинкин, Самошкина, 1967). Существенное значение, по-видимому, в этом случае имеет и интенсивность воздействия на слизистую оболочку матки как при естественно протекающей имплантации, так и при искусственно вызываемых децидуомах. В последнем случае более грубое травмирование гормонально подготовленных тканей рога матки, вызванное экспериментальным путем, приводит к образованию более крупной децидуомы, чем в норме. (Зыбина, 1958а; Зыбина, Грищенко, 1972).

Интересно, что проникновение паразитов может усиливать естественные процессы политенизации хромосом в слюнных железах Diptera. Так, при

заражении личинок *Sciaridae* микроспоридиями в клетках слюнной железы происходит серия циклов эндоредупликации в политенных хромосомах, приводящая к значительному увеличению их размеров. Ядра таких клеток содержат в 64 или 128 раз больше ДНК, чем таковые у неинфицированных насекомых (Pavan, Brito-da-Cunha, 1968). Методом микроденситометрии было установлено, что степень плоидности политенных ядер достигает 1 048 000с, что соответствует 19 раундам эндоредупликации.

Необычным примером полиплоидии клеток, окружающих паразитический организм, является капсула личинки кишечнорастворимого животного *Polypodium hydriforme*, которая паразитирует в ооцитах осетровых рыб. Эта капсула представлена единственной полиплоидной клеткой, которая развивается из направительного тельца ооцита после второго мейотического деления. Капсула выполняет трофическую и защитную функции в отношении развивающегося полиподнума (Райкова, 1980).

Приведенные факты свидетельствуют о том, что такая реакция организмов на внедрение паразитов, как локальное образование полиплоидных клеток, является общей для различных систематических групп животных. Из этого вытекает, что соматическая полиплоидия — не строго запрограммированное явление, она может развиваться под воздействием различных факторов. Есть основания полагать, что в некоторых случаях, в частности при заражении паразитами, она может иметь приспособительное значение в системе взаимоотношений паразита и хозяина; так, полиплоидные функционально высокоактивные клетки способны обеспечивать питание паразитических личинок. Можно также предположить, что в этом случае полиплоидия может иметь защитное значение. При заражении тканей хозяина паразитами неизбежны повреждения клеток, которые понижают их устойчивость к мутагенным факторам. Поэтому полиплоидизация заражаемых тканей, как и в случае контакта клеток трофобласта с децидуальной тканью, по-видимому, может предохранять организм хозяина от существенных повреждений наследственного аппарата.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Многие аспекты общей картины преобразований, происходящих в клетках трофобласта и обеспечивающих нормальное протекание имплантации и образования плаценты, представляются достаточно ясными. Некоторые удивительные на первый взгляд факты находят свое объяснение, а самые разнообразные специфические особенности клеток трофобласта и децидуальных клеток, претерпевающих закономерные изменения в строго ограниченных интервалах времени, обна- руживают тесную взаимосвязь друг с другом.

Наиболее детально к настоящему времени выяснен вопрос о репродукции клеток трофобласта. Оказалось, что одной из главных особенностей их дифференцировки является полиплоидизация ядер. Данные, полученные на клетках трофобласта, убедительно свидетельствуют о том, что степень полиплоидии зависит от способа полиплоидизации (см. рис. 36): наиболее высокий уровень (512—2048с) характерен для первичных и вторичных гигантских клеток трофобласта, которые с начала своей дифференцировки вступают на путь политенизации.

На наш взгляд, особый интерес представляет типичный для ядер трофобласта непостоянный характер выявления политенных хромосом в цикле ядра. Изменение степени ассоциации хромосом в политенных хромосомах млекопитающих, по всей видимости, происходит не случайно, а имеет глубокую функциональную основу. Это может быть связано с периодичностью репликации и транскрипции хромосом, что в свою очередь регулируется в соответствии с программой развития клеток трофобласта.

Политенизация хромосом происходит в период наиболее интенсивного функционирования клеток трофобласта и сопровождается высокой транскрипционной активностью хромосом. Рис. 37 дает представление о том, насколько изменения морфологии политенных хромосом коррелируют с другими существенными преобразованиями как структуры, так и функции ядра. Цикл конденсации—деконденсации политенных хромосом (стадии S и G) сопровождается циклическими изменениями ультраструктуры ядрышка и предполагаемых продуктов активности хромосом. Так, на стадии S количество гранулярного компонента в ядрышке больше, чем на стадии G. РНП-содержащие продукты хромосомной активности различаются по своей ультраструктуре. В ядрах с деконденсированными хромосомами (стадия S) имеется много интерхроматиновых гранул, перихроматиновые гранулы и ядрышкоподобные тельца встречаются в небольшом количестве. Напротив, в ядрах с конденсированным хроматином (стадия G) наряду с интерхроматиновыми и перихроматиновыми гранулами обнаружено значительно большее количество ядрышкоподобных фибриллярно-гранулярных телец и обширные массы конденсированного хроматина с заключенными внутри них перихроматиновыми гранулами. Выявленное морфологическое различие структур, образующихся на хромосомах двух стадий цикла политенного ядра, может указывать на различную природу продуктов генной активности, вырабатываемых в разные периоды цикла.

Важно, что временный характер обнаружения политенных хромосом млекопитающих проявляется не только в цикле ядра, но и в онтогенезе клетки, что совпадает с изменением функциональной характеристики хромосом (см. рис. 37). На более поздних этапах дифференцировки клеток трофобласта наблюдается прекращение синтеза ДНК, а также некоторое снижение синтеза РНК (Зыбина, 1963б), сопровождающееся накоплением в ядре более разнообразных

РНП-содержащих ядрышкоподобных образований (Зыбина, 1980в, 1980г). В ядрах присутствуют более многочисленные и разнообразные ядрышкоподобные тельца: тонкофибриллярные, грубофибриллярные, фибриллярно-гранулярные тельца типа «coiled body» с крупными гранулами и перихроматиновые гранулы в участках конденсированного хроматина.

Таким образом, пока еще лишь в случае трофобласта млекопитающих существует достаточно полная морфофункциональная характеристика цикла политенного ядра при неклассической форме политении. Вероятно, подобные циклы преобразований присущи и некоторым другим случаям политении, о чем пока еще имеются лишь фрагментарные сведения (Nagl, 1978, 1981). Такой аспект изучения циклов политенного ядра важен для более глубокого понимания самого явления политении. В то же время обнаружение и детальное изучение политенных хромосом у млекопитающих открывают возможность создания удобной цитогенетической модели для этого класса животных наподобие той, которая имеется у *Diptera*.

Ранее уже указывалось, что существует тесная корреляция между способностью гигантских клеток трофобласта к репродукции хромосом и проявлением их специфических функций — инвазии и фагоцитоза материнских тканей при плацентации. В этом случае высокая степень умножения генома, а также особая форма политении, по-разному проявляющаяся на разных стадиях развития, по всей вероятности, являются одним из основных условий дифференцировки клеток трофобласта, способных к фагоцитозу. Значение такой закономерности еще не совсем ясно, относительно этого пока можно строить различные предположения.

Судьба вторичных гигантских клеток трофобласта является убедительным свидетельством в пользу необратимого характера дифференцировки клетки при политении. Фрагментация ядер является заключительным этапом их дифференцировки: образовавшиеся ядерные фрагменты не способны к синтезу ДНК и к дальнейшей пролиферации. Тем не менее, разделение хромосомного материала происходит не случайно — существует тенденция к погеномному распределению. В настоящее время можно считать, что фрагментации предшествует сложная перестройка генетического материала в исходном ядре, в результате которой политенные хромосомы диссоциируют на отдельные хромомеры с последующим преобразованием в эндохромосомы.

Ход последовательных превращений при переходе от политении к полиплондии и далее к полной сегрегации геномов до образования ядерных фрагментов пока еще не известен в каких-либо других случаях неклассической политении, тогда как отдельные этапы этого процесса (деполитенизация, сегрегация геномов и некоторые другие) обнаруживают аналогии с различными случаями полиплондии и политении у насекомых, растений, простейших. Возможно, исследования в этом направлении позволят оценить степень универсальности механизмов деполитенизации и сегрегации геномов, описанных в трофобласте, для различных эволюционных групп.

Учитывая широкое распространение неклассической формы политении в растительном и животном мире, можно полагать, что исследования в обсуждаемых направлениях имеют общеприкладное значение.

- Айзенштадт Т. Б., Детлаф Т. А. Ультраструктура ооцита севрюги в период созревания. I. Пористые пластинки и комплекс Гольджи. — Онтогенез, 1972, т. 3, № 3, с. 280—288.
- Андреева Л. Ф. Исследование синтеза ДНК и кинетики клеточных популяций в гигантских клетках и в клеточном трофобласте плаценты. — В кн.: Исследование клеточных циклов и метаболизма нуклеиновых кислот при дифференциации клеток. М.; Л., 1964, с. 136—147.
- Анисимов А. П. Полиплоидизация и увеличение размеров ядер эпителия матки в постнатальном онтогенезе *Ascaris suum* (Nematoda). — Архив анатомии, гистол. эмбриол., 1974, т. 66, № 4, с. 36—44.
- Анисимов А. П., Сидоров В. В. Возрастная полиплоидизация эпителиальных клеток матки *Ascaris suum* (Nematoda). — Онтогенез, 1972, т. 3, № 2, с. 187—193.
- Арронет В. Н. Поведение хромосом и ядрышек в оогенезе иглокожих. — Цитология, 1971, т. 13, № 8, с. 946—955.
- (Арронет В. Н.) Arronet V. N. Morphological changes of nuclear structures in the oogenesis of reptiles (Lacertidae, Agamidae). — J. Herpetol., 1973, vol. 7, p. 163—193.
- Арронет В. Н. Белковые гранулы и сферы в ядрах ооцитов рептилий. — Цитология, 1975, т. 17, № 2, с. 137—142.
- Афонькин С. Ю. Получение и характеристика клонов амёб *Amoeba proteus* с увеличенным содержанием ДНК в ядре: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Л., 1984. 24 с. (Ин-т цитол. АН СССР).
- Бахтадзе Г. И. Авторадиографическое изучение редупликации ДНК и транскрипции при дифференциации клеток семенных фолликулов в онтогенезе *Schistocerca gregaria*: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Тбилиси, 1976. 20 с. (Ин-т зоол. АН СССР).
- Бродский В. Я. Трофика клетки. М., 1966. 355 с.
- Бродский В. Я., Урываева И. В. Развитие и свойства полиплоидных клеточных популяций в онтогенезе млекопитающих. — Онтогенез, 1970, т. 1, № 3, с. 229—247.
- Бродский В. Я., Урываева И. В. Соматическая полиплоидия в развитии тканей. — Онтогенез, 1974, т. 5, № 6, с. 594—605.
- (Бродский В. Я., Урываева И. В.) Brodsky W. Ya., Uryvaeva I. V. Cell polyploidy: its relation to tissue growth and function. — Intern. Rev. Cytol., 1977, vol. 50, p. 275—332.
- Бродский В. Я., Урываева И. В. Клеточная полиплоидия: Пролиферация и дифференцировка. М., 1981. 259 с.
- Валеева Ф. С., Кикнадзе И. И. Изменение массы ДНК в ядрах клеток слюнной железы хирономид при полителизации. — Онтогенез, 1971, т. 2, № 4, с. 406—410.
- Винников Я. А., Прейсман А. Б. Гистологические изменения яйцеводов при внематочной (трубной) беременности. — В кн.: Тр. II Всесоюз. совещ. эмбриологов. Л., 1957, с. 30—31.
- Винникова Н. В., Голикова М. Н. Ультраструктура полительных хромосом в зачатках макронуклеуса инфузории *Nyctotherus cordiformis*. — Цитология, 1978, т. 20, № 7, с. 731—735.
- Гагинская Е. Р. Ядерные структуры в ооцитах половозрелых лтнц. — Цитология, 1972, т. 14, № 4, с. 426—432.
- Гагинская Е. Р., Грузова М. Н. Особенности оогенеза зяблика. — Цитология, 1969, т. 11, № 10, с. 1241—1251.
- Газарян К. Г., Кульминская А. С. Обмен РНК и белка в дифференцирующихся клетках кишечного эпителия мыши. — Докл. АН СССР, 1966, т. 166, № 2, с. 462—464.
- Газарян К. Г., Ченцов Ю. С., Кульминская А. С. Изменение в обмене РНК, белка и в ультраструктуре системы «крипта—ворсинка» (эпителий тонкой кишки). — Журн. общ. биол., 1967, т. 28, № 2, с. 198—208.
- Гершензон С. М., Александров Ю. Н., Мамюта С. С. Мутагенное действие ДНК и вирусов у дрозофилы. Киев, 1975. 160 с.
- Гозак П., Зацепина О. В., Ченцов Ю. С. Ультраструктура, форма и число фибриллярных центров в клетках G₀-периода культуры ткани почки эмбриона свиньи. — Цитология, 1983, т. 25, № 11, с. 1236—1242.
- Голикова М. Н. Полительные хромосомы в развивающемся макронуклеусе. — Цитология, 1964, т. 6, № 2, с. 250—253.
- (Голикова М. Н.) Golikova M. N. Der Aufbau des Kernapparates und die Verteilung der Nucleinsäuren und Proteine bei *Nyctotherus cordiformis* Stein. — Arch. Protistenk., 1965, Bd 108, S. 191—216.
- Горощенко Ю. Л., Чуксанова Н. А. Эндополиплоидия как фактор увеличения размеров клубня картофеля в процессе видообразования. — В кн.: Полиплоидия и селекция. М.: Л., 1965, с. 285—289.
- Грузова М. Н. Функциональная морфология ядерных структур в связи с разными типами оогенеза. — Успехи соврем. генет., 1971, т. 3, с. 206—212.
- Грузова М. Н. Ядерные структуры в овариолах *Laspeyresia pomonella*. О половых хроматинах в трофоцитах. — Онтогенез, 1974, т. 5, № 6, с. 622—632.
- Грузова М. Н. Ядро в оогенезе (структурно-функциональный аспект). — В кн.: Современные проблемы оогенеза. М., 1977, с. 51—98.

- Грузова М. И. Ядерные структуры в телотрофных овариальных желез чернотелок. 1. Трофобласты *Blaps lethifera* (Tenebrionida, polyphaga), светооптические и электронно-микроскопические данные. — Онтогенез, 1979, т. 10, № 1, с. 13—23.
- Гундерина Л. И., Шерудило А. И., Митина Р. Л. Цикл редупликации ДНК при полителизации хромосом в клетках слюнных желез личинок *Chironomus thummi*. 2. Цитофотометрический и автордиографический анализ динамики синтеза ДНК в индивидуальных клетках слюнных желез. — Цитология, 1984а, т. 26, № 7, с. 794—801.
- Гундерина Л. И., Шерудило А. И., Митина Р. Л. Цикл редупликации ДНК при полителизации хромосом в клетках слюнных желез личинок *Chironomus thummi*. 3. Определение продолжительности периода синтеза ДНК. — Цитология, 1984б, т. 26, № 8, с. 927—935.
- Дондуа А. К. Фагоцитоз и воспаление на разных стадиях развития куриного эмбриона: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Л., 1954. 20 с. (ЛГУ).
- Жемкова З. П. Гистологическое строение трофобласта у некоторых грызунов и человека: Автореф. дис. ... докт. мед. наук. Л., 1956. 19 с. (ИЭМ АМН СССР).
- Жемкова З. П., Гончарова О. И. Клинико-морфологическая диагностика недостаточности плаценты. Л., 1973. 181 с.
- Жимухов И. Ф., Беляева Е. С. Изменение структуры политемных хромосом дрозофилы при длительном культивировании слюнных желез личинок в брюшной полости взрослых мух. — Цитология, 1976, т. 18, № 1, с. 5—9.
- Жимухов И. Ф., Лычев В. А. Функционирование хромосом слюнных желез личинок *Nargandia laevi* (Diptera, Cecidomyiidae). 1. Изменение морфологии хромосом гигантских клеток на онтогенезе. — Онтогенез, 1972, т. 3, № 2, с. 194—201.
- Жинкин Л. Н. Эндорепродукция. — В кн.: Руководство по цитологии. М.; Л., 1966а, т. 2, с. 264—269.
- Жинкин Л. Н. Митотические (клеточные) циклы. — В кн.: Руководство по цитологии. М.; Л., 1966б, т. 2, с. 244—251.
- Жинкин Л. Н., Нилова В. К. Синтез ДНК и функциональная активность хромосом. — Успехи соврем. биол., 1968, т. 65, вып. 2, с. 233—244.
- (Жинкин Л. Н., Самошкина Н. А.) Zhinkin L. N., Samoshkina N. A. DNA synthesis and cell proliferation during the formation of deciduomata in mice. — J. Embryol. Exp. Morphol., 1967, vol. 17, p. 593—605.
- Заварзин А. А. Исследование синтеза ДНК и продолжительности митотического цикла при гистогенезе кишечного эпителия. — В кн.: Исследование клеточных циклов и метаболизма нуклеиновых кислот при дифференцировке клеток. М.; Л., 1964, с. 36—50.
- Заварзин А. А. Синтез ДНК и кинетика клеточных популяций на онтогенезе млекопитающих. Л., 1967. 195 с.
- Заварзин А. А., Самошкина Н. А. О реутилизации ³H-тимидина в раннем эмбриогенезе у мышей. — Цитология, 1967, т. 9, № 1, с. 92—96.
- (Захаров А. Ф., Егорова Н. А.) Zakharov A. F., Egorova N. A. Asynchrony of DNA replication and mitotic spiralization along heterochromatic portion of Chinese hamster chromosomes. — Chromosoma, 1968, vol. 23, p. 365.
- Захарьева О. И. Полиплоидия в онтогенезе растений. — В кн.: Полиплоидия у растений. М., 1962, с. 98—108.
- Зацепина О. В., Поляков В. Ю., Ченцов Ю. С. Электронно-микроскопическое изучение ядерной оболочки клеток СПЭВ при митозе. 1. Распад ядерной оболочки (профаза, прометафаза, метафаза). — Цитология, 1976, т. 18, № 11, с. 1299—1304.
- Зацепина О. В., Поляков В. Ю., Ченцов Ю. С. Электронно-микроскопическое изучение ядерной оболочки клеток пыльников льна древовидного во время митоза. — Цитология, 1977, т. 19, № 10, с. 1110—1115.
- Зыбина Е. В. Морфологические наблюдения над имплантацией яйца в связи с проблемой иммунитета зародышей. — Бюл. эксперим. биол. мед., 1955, т. 8, с. 53—56.
- Зыбина Е. В. Морфологические наблюдения над имплантацией яйца в связи с проблемой иммунитета эмбрионов. — В кн.: Проблемы современной эмбриологии. Л., 1956, с. 325.
- Зыбина Е. В. Морфологические наблюдения над имплантацией бластоцисты крысы (материалы к вопросу о механизме имплантации). — Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Л., 1958а. 24 с. (ЛГУ).
- Зыбина Е. В. Цитологические наблюдения над клетками метриальной железы крысы. — Докл. АН СССР, 1958б, т. 120, № 4, с. 882—885.
- Зыбина Е. В. О половом хроматине в клетках различных тканей млекопитающих. — Цитология, 1959, т. 1, № 4, с. 357—365.
- Зыбина Е. В. Половой хроматин в трофобласте ранних зародышей белой крысы. — Докл. АН СССР, 1960, т. 130, № 3, с. 633—635.
- Зыбина Е. В. Эндомитоз и политемия гигантских клеток трофобласта. — Докл. АН СССР, 1961, т. 140, № 5, с. 1177—1180.
- Зыбина Е. В. Цитофотометрическое определение содержания ДНК в ядрах гигантских клеток трофобласта. — Докл. АН СССР, 1963а, т. 153, № 6, с. 1428—1431.
- Зыбина Е. В. Автордиографическое и цитохимическое исследование нуклеиновых кислот (ДНК и РНК) в эндомитотическом цикле гигантских клеток трофобласта. — В кн.: Морфология и цитохимия клетки. М.; Л., 1963б, с. 34—44.
- Зыбина Е. В. Половой хроматин в гигантских клетках трофобласта и в клетках ранних зародышей кролика. — Цитология, 1964, т. 6, № 5, с. 583—586.
- (Зыбина Е. В.) Zybina E. V. Sex chromatin in giant cells of trophoblast and in cells of early rabbit embryos. — Fed. Proc., 1965, vol. 24 (Transl. Suppl.), p. 868—876.
- Зыбина Е. В. Структура ядра и ядрышка в оогенезе мыши. — Цитология, 1968, т. 10, № 1, с. 36—42.
- Зыбина Е. В. Поведение хромосомно-ядрышкового аппарата в период большого роста ооцитов кролика. — Цитология, 1969, т. 11, № 1, с. 25—31.
- Зыбина Е. В. Особенности полиплоидизации клеток трофобласта. — Цитология, 1970, т. 12, № 9, с. 1084—1091.
- Зыбина Е. В. Синтез РНК и белка в растущем ооците и фолликуле мыши. — Цитология, 1971, т. 13, № 6, с. 768—775.
- Зыбина Е. В. Ультраструктура ооцита кролика на стадии двухслойного фолликула. — Цитология, 1975а, т. 17, № 2, с. 126—130.
- Зыбина Е. В. Электронно-микроскопическое

исследование хромосом типа ламповых щеток и продуктов их активности в оогенезе кролика. — Цитология, 1975б, т. 17, № 8, с. 875—880.

Зыбина Е. В. Фагоцитарная активность и репродукция клеток трофобласта у зародышей белой крысы. — Цитология, 1976а, т. 18, № 6, с. 683—688.

Зыбина Е. В. Особенности фагоцитоза при митотической и эндомитотической репликации хромосом в трофобласте серой полевки. — Цитология, 1976б, т. 18, № 7, с. 834—839.

Зыбина Е. В. Структура полигенных хромосом в трофобласте млекопитающих. — Цитология, 1977, т. 19, № 4, с. 327—337.

Зыбина Е. В. Изучение складчатости ядерной оболочки и некоторых ее производных в ядрах полиплоидных клеток трофобласта крысы. — Цитология, 1979а, т. 21, № 11, с. 1253—1258.

Зыбина Е. В. Фрагментация полиплоидных ядер в гигантских клетках трофобласта крысы. 1. Ультраструктура ядерных фрагментов. — Цитология, 1979б, т. 21, № 11, с. 1259—1265.

Зыбина Е. В. Внутрядерные и цитоплазматические пористые пластинки в полиплоидных гигантских клетках трофобласта. — Цитология, 1979в, т. 21, № 12, с. 1419—1426.

Зыбина Е. В. Фрагментация полиплоидных ядер в гигантских клетках трофобласта крысы. 2. Формирование глубоких складок ядерной оболочки — начало фрагментации. — Цитология, 1980а, т. 22, № 1, с. 10—14.

Зыбина Е. В. Фрагментация полиплоидных ядер в гигантских клетках трофобласта крысы. 3. Участие внутрядерных мембранных структур в процессе деления. — Цитология, 1980б, т. 22, № 1, с. 15—19.

Зыбина Е. В. Электронно-микроскопическое исследование эндополиплоидных ядер в гигантских клетках трофобласта крысы. 1. Ультраструктура полигенных хромосом и продуктов их активности на разных стадиях цикла эндорепликации. — Цитология, 1980в, т. 22, № 11, с. 1284—1289.

Зыбина Е. В. Электронно-микроскопическое исследование эндополиплоидных ядер в гигантских клетках трофобласта крысы. 2. Изменение ультраструктуры полигенного ядра в ходе дифференцировки. — Цитология, 1980г, т. 22, № 12, с. 1379—1386.

Зыбина Е. В. Электронно-микроскопическое исследование эндополиплоидных ядер в гигантских клетках трофобласта крысы. 3. Ультраструктура ядрышка и его фибриллярный центр на различных стадиях цикла эндорепликации. — Цитология, 1981а, т. 23, № 1, с. 5—11.

Зыбина Е. В. Электронно-микроскопическое исследование эндополиплоидных ядер в гигантских клетках трофобласта крысы. 4. Изменение ультраструктуры ядрышка в ходе дифференцировки клеток. — Цитология, 1981б, т. 23, № 2, с. 129—132.

Зыбина Е. В. Репродукция и морфо-функциональные особенности гигантских клеток трофобласта: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Л., 1981в. 44 с.

Зыбина Е. В. Различные пути репродукции при дифференцировке плаценты млекопитающих. — Цитология, 1983, т. 25, № 10, с. 1103—1127.

Зыбина Е. В. Полиения и эндомитоз в супергигантских клетках серой полевки *Microtus subarvalis* и в трофобласте кролика: примеры

диссоциации полигенных хромосом на эндохромосомы. — В кн.: Труды III национальной конференции по цитогенетике. Пловдив, 1984, с. 418—421.

Зыбина Е. В., Грищенко Т. А. Полиплоидные клетки трофобласта в различных отделах плаценты белой крысы. — Цитология, 1970, т. 12, № 5, с. 585—595.

Зыбина Е. В., Грищенко Т. А. Спектрофотометрическое определение степени плоидности в децидуальных клетках эндометрия белой крысы. — Цитология, 1972, т. 14, № 3, с. 284—290.

Зыбина Е. В., Грищенко Т. А. Ультраструктура ядрышкоподобных тел в ооцитах золотистого хомячка на стадии диплономы. — Цитология, 1977, т. 19, № 11, с. 1231—1237.

Зыбина Е. В., Зыбина Т. Г. Полиения и эндомитоз в сверхгигантских клетках трофобласта серой полевки *Microtus subarvalis*. — Цитология, 1985, т. 27, № 4, с. 402—410.

Зыбина Е. В., Мосьян И. А. Тельца полового хроматина при эндомитотической полиплоидизации клеток трофобласта. — Цитология, 1967, т. 9, № 3, с. 265—272.

Зыбина Е. В., Румянцев П. П. Образование сложной системы цитоплазматических мембран и пучков микрофиламентов в период завершения фрагментации ядер гигантских поликардиоцитов трофобласта. — Цитология, 1980, т. 22, № 8, с. 890—898.

Зыбина Е. В., Тихомирова М. М. К вопросу об эндомитотической полиплоидизации гигантских клеток трофобласта. — В кн.: Морфология и цитохимия клетки. Л., 1963, с. 53—63.

Зыбина Е. В., Тихомирова М. М. О природе полового хроматина. — Цитология, 1965, т. 7, № 5, с. 585—601.

Зыбина Е. В., Черногрядская Н. А. Изучение полиплоидных ядер гигантских клеток трофобласта некоторых видов грызунов с помощью фазово-контрастной микроскопии. — Цитология, 1976, т. 18, № 2, с. 161—165.

Зыбина Е. В., Кудрявцева М. В., Кудрявцев Б. Н. Морфологическое и цитотометрическое изучение гигантских клеток трофобласта кролика. — Цитология, 1973, т. 15, № 7, с. 833—840.

Зыбина Е. В., Кудрявцева М. В., Кудрявцев Б. Н. Морфологическое и цитофлуориметрическое исследование гигантских клеток трофобласта серой полевки. — Цитология, 1975а, т. 17, № 3, с. 254—260.

(Зыбина Е. В., Кудрявцева М. В., Кудрявцев Б. Н.) Zybina E. V., Kudryavtseva M. V., Kudryavtsev B. N. Polyploidization and endomitosis in giant cells of rabbit trophoblast. — Cell Tissue Res., 1975б, vol. 160, p. 525—537.

Зыбина Е. В., Кудрявцева М. В., Кудрявцев Б. Н. Распределение хромосомного материала при делении гигантских ядер путем фрагментации. Морфологическое и цитотометрическое исследование. — Цитология, 1979, т. 21, № 1, с. 12—20.

Зыбина Е. В., Грищенко Т. А., Семенов В. М. Ультраструктура фибриллярного центра в ядрышках ооцитов на стадии диплономы у золотистого хомячка. — Цитология, 1984а, т. 26, № 11, с. 1246—1249.

Зыбина Е. В., Зыбина Т. Г., Штейн Г. И. Особенности репродукции клеток трофобласта соединительной зоны. 1. Определение степени плоидности и числа тел Барра в интерфазных ядрах. — Цитология, 1984б, т. 26, № 5, с. 525—530.

- Зыбина Е. В., Зыбина Т. Г., Штейн Г. И. Особенности репродукции клеток трофобласта соединительной зоны. 2. Определение степени плоидности митотических фигур. — Цитология, 1984в, т. 26, № 5, с. 531—536.
- Зыбина Т. Г., Зыбина Е. В., Кудрявцева М. В., Кудрявцев Б. И. Цитотометрическое изучение полового хроматина в ядрах гигантских клеток трофобласта кролика. — Цитология, 1980, т. 22, № 9, с. 1037—1046.
- Ивановская Е. В. Онтогенетическая полиплоидия в тканях зерновки злаков. — Изв. АН СССР. Сер. биол., 1968, № 4, с. 507—516.
- Ивановская Е. В. Функциональная морфология полилетних хромосом антипод пшеницы. — Цитология, 1973, т. 15, № 12, с. 1445—1452.
- Ивановская Е. В. Цитозембриологическое исследование дифференцировки клеток растений. М., 1983. 140 с.
- Ивановская Е. В., Прокофьева З. Д. Политения в ядрах антипод пшеницы. — Докл. АН СССР, 1963, т. 152, № 2, с. 446—449.
- Ильинская Н. Б., Селиванова Г. В. Морфология полилетних хромосом на разных стадиях эндоредупликации. 1. Содержание ДНК и морфология клеток слюнных желез личинок *Chironomus plumosus* IV возраста. — Цитология, 1982, т. 24, № 2, с. 144—155.
- Истомина А. Г. Особенности эндомитоза у саранчовых: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Новосибирск, 1976. 22 с. (Ин-т цитол. и генет., Сиб. отд-ние АН СССР).
- Истомина А. Г., Высоцкая Л. В. Изучение амитоза в полиплоидных клетках стенки семенных фолликулов саранчовых. — В кн.: Материалы II Всесоюз. симпозиума по соматической полиплоидии. Ереван, 1977, с. 47—48.
- Истомина А. Г., Кикнадзе И. И., Христоробова Н. Б. Ультраструктурная организация тканеспецифического кольца Бальбани *Chironomus thummi*. — Цитология, 1983, т. 25, № 9, с. 1037—1041.
- Кикнадзе И. И. Изменение ядерных структур в оогенезе норки. — Цитология, 1966, т. 8, № 3, с. 384—387.
- Кикнадзе И. И. Функциональная организация хромосом. Л., 1972. 211 с.
- Кикнадзе И. И., Истомина А. Г. Сравнительное изучение эндомитоза у нескольких видов саранчовых. — Цитология, 1972, т. 14, № 12, с. 1519—1528.
- (Кикнадзе И. И., Истомина А. Г.) Kiknadze I. I., Istomina A. G. Endomitosis in grasshopper. I. Nuclear morphology and synthesis of DNA and RNA in the endopolyploid cells of the inner parietal layer of the testicular follicle. — Eur. J. Cell. Biol., 1980, vol. 21, p. 122—133.
- Кикнадзе И. И., Тутурова К. Ф. О транскрипционных способностях эндомитотирующих клеток семенника *Chrysophraon dispar dispar*. — Цитология, 1970, т. 12, № 7, с. 844—853.
- Кикнадзе И. И., Бахтадзе Г. И., Истомина А. Г. Автордиографическое и цитотометрическое исследование редупликации в эндомитотических клетках *Schistocerca gregaria*. — Цитология, 1975, т. 17, № 5, с. 509—517.
- Кикнадзе И. И., Перов Н. А., Ченцов Ю. С. Электронно-микроскопическое изучение формирования пучков у хирономуса. — Цитология, 1977, т. 19, № 3, с. 259—262.
- Ковалева В. Г., Винникова Н. В., Райков Н. Б. Электронно-микроскопическое исследование ядерного аппарата низшей инфузории *Tetrahymena*. — Цитология, 1979, т. 21, № 3, с. 280—285.
- (Кольцов Н. К.) Kolzoff N. K. The structure of the chromosomes in the salivary glands of *Drosophila*. — Science, 1934, vol. 80, p. 312—321.
- Корре А. Г. Гистологические особенности двухнедельного зародыша человека. — Архив анатомии, гистол. эмбриол., 1956, т. 33, № 2, с. 38—46.
- Корре А. Г. Современное состояние знаний о ранних стадиях нормального эмбрионального развития человека. — Архив анатомии, гистол. эмбриол., 1969, т. 57, № 8, с. 3—22.
- Куликова В. Н. Сравнительное изучение морфологии ядерных структур в овогенезе некоторых рептилий. — Цитология, 1963, т. 5, № 6, с. 648—651.
- Литвер Г. М. К вопросу о тонком строении гигантских клеток плаценты белой мыши. — Журн. акушерства и женских болезней, 1929, т. 40, № 1, с. 24—27.
- Лобашев М. Е. Генетика. Л., 1967. 751 с.
- Макаренко И. Г. Цитология и гистохимия матки в процессе беременности: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1954. 21 с. (МГУ).
- (Максимов А. А.) Maximow A. A. Zur Kenntnis des feineren Baues der Kaninchenplacenta. — Arch. mikrosk. Anat., 1898, Bd 51, S. 68—136.
- (Максимов А. А.) Maximow A. A. Die ersten Entwicklungsstadium der Kaninchen-placenta. — Arch. mikrosk. Anat., 1900, Bd 56, S. 699—739.
- (Максимов А. А.) Maximow A. A. Tissuecultures of young mammalian embryos. — Contrib. Embryol. Carnegie Inst. Wash. Publ., 1925, vol. 361, p. 47—113.
- Мартынова М. Г., Антипанова Е. М., Румянцев П. П. Исследование количества ДНК, телес полового хроматина и ядрышек в ядрах мышечных клеток нормальных и гипертрофированных предсердий человека. — Цитология, 1983, т. 25, № 5, с. 614—619.
- Миракин В. О., Румянцев П. П. Синтез ДНК в постнатальном гистогенезе миокарда, при его инфаркте, гипертрофии и регенерации (цитотометрический и автордиографический анализ). — Цитология, 1968, т. 10, № 8, с. 964—980.
- Паткин Е. Л. Генетическая активность X-хромосомы в начальном эмбриогенезе мыши. — В кн.: Тез. VI Всесоюз. совещ. эмбриологов. М., 1981, с. 143.
- Перов Н. А., Ченцов Ю. С. Электронно-микроскопическое изучение полилетних хромосом *Chironomus plumosus*. — Докл. АН СССР, 1971, т. 196, № 6, с. 1452—1455.
- Перов Н. А., Кикнадзе И. И., Ченцов Ю. С. Ультраструктурная организация полилетних хромосом слюнных желез *Chironomus thummi*. — Цитология, 1975, т. 17, № 4, с. 390—396.
- Перов Н. А., Кикнадзе И. И., Ченцов Ю. С. Ультраструктура пучков полилетних хромосом у *Chironomus thummi*. — Цитология, 1976, т. 18, № 7, с. 840—846.
- Погосянц Е. Е. О некоторых особенностях мейоза у млекопитающих. — Цитология, 1971, т. 13, № 4, с. 447—454.
- (Погосянц Е. Е., Бруляк Э. Т.) Pogosianz H. E., Brujako E. T. Meiosis in the Djungarian hamster. 2. Polyploid spermatocytes. — Cytogenetics, 1971, vol. 10, p. 70—76.
- Прокофьева-Бельгоская А. А. Цикл ядра и дифференциация соматических клеток. —

- В кн.: Вопросы цитологии и общей физиологии. М.; Л., 1960, с. 215—253.
- Прокофьева-Бельговская А. А. Хромосомные заболевания человека. Нарушения в системе половых хромосом. — Цитология, 1963, т. 5, № 5, с. 487—498.
- Прокофьева-Бельговская А. А. Гетерохроматические районы хромосом: строение и функции. — Журн. общ. биол., 1977, т. 38, № 5, с. 735—753.
- Райков И. Б. Карниология простейших. Л., 1967. 258 с.
- Райков И. Б. Ядро простейших. Морфология и эволюция. Л., 1978. 327 с.
- (Райков И. Б.) *Raikov I. B.* The protozoan nucleus: Morphology and evolution. (Cell Biology Monographs. Vol. 9). Wien; New York: Springer-Verlag, 1982. 474 p.
- Райков И. Б., Аммерман Д. Новые успехи в изучении макронуклеуса инфузорий. — В кн.: Карниология и генетика простейших. Л., 1976, вып. 1, с. 64—90. (Сер. Протозоология).
- Райков И. Б., Ковалева В. Г. Ультраструктура ядерного комплекса нижней морской инфузории *Trachelographis phoenicopterus*. — Цитология, 1977, т. 19, № 4, с. 350—355.
- Райкова Е. В. Ультраструктура ооцитов стерляди в начале вителлогенеза. 1. Ультраструктура ядра. — Цитология, 1974, т. 16, № 6, с. 679—684.
- (Райкова Е. В.) *Raikova E. V.* Evolution of the nucleolar apparatus during oogenesis in *Acipenseridae*. — J. Embryol. Exp. Morphol., 1976, vol. 35, p. 667—687.
- (Райкова Е. В.) *Raikova E. V.* Morphology, ultrastructure and development of the parasitic larva and its surrounding trophamnion of *Polypodium hydriforme* Ussov (Coelenterata). — Cell Tissue Res., 1980, vol. 206, p. 487—500.
- Романова Л. Г. Морфологические изменения ядрышка в оогенезе моллюсков рода *Littorina*. — В кн.: Морфология и цитохимия клетки. М.; Л., 1963, с. 23—28.
- Романова Л. Г. Сравнительное изучение структуры амфиноклеуса в оогенезе пластинчатожабберных моллюсков. — Цитология, 1977, т. 19, № 11, с. 1225—1230.
- Румянцев П. П. Процессы пролиферации и дифференцировки в гистогенезе миокарда и при его экспериментальных изменениях: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Л., 1978. 42 с. (ЛГУ).
- Румянцев П. П. Кардиомиоциты в процессах репродукции, дифференцировки и регенерации. Л., 1982. 288 с.
- Сахаров Д. А. Функциональная организация гигантских нейронов моллюсков. — Успехи соврем. биол., 1965, т. 60, № 3 (6), с. 365—383.
- Светлов П. Г. Теория критических периодов развития и ее значение для понимания принципов действия среды на онтогенез. — В кн.: Вопросы цитологии и общей физиологии. М.; Л., 1960, с. 263—285.
- Светлов П. Г., Корсакова Г. Ф. Процесс имплантации бластоцист у крыс. — Докл. АН СССР, 1955, т. 103, № 3, с. 503—507.
- Семенова-Тян-Шанская А. Г., Паткин Е. Л. Связь гетерохроматизации одной из X-хромосом в гонютах ранних зародышей человека с пребыванием этих клеток в «зачатковом» эпителии. — Архив анатомии, гистол. эмбриол., 1977, т. 73, № 9, с. 124.
- Соколов И. И. О явлениях слияния клеточных ядер. — Архив анатомии, гистол. эмбриол., 1955, т. 32, № 4, с. 54—62.
- Соколов И. И. Исследование ядерных структур у пауков. 2. Половые хромосомы. — Цитология, 1962, т. 4, № 6, с. 617—625.
- Соколов И. И. Эндомитотическая полиплоидия эпителиальных клеток мужской гонады пауков (*Araneina*). Сообщение 1. — Цитология, 1967а, т. 9, № 2, с. 152—161.
- Соколов И. И. Эндомитотическая полиплоидия эпителиальных клеток мужской гонады пауков. Сообщение 2. — Цитология, 1967б, т. 9, № 3, с. 257—264.
- Токин Б. П. Иммунитет зародышей. Л., 1955. 96 с.
- Туманишвили Г. Д., Челидзе П. В. Ультраструктура и функции кольцевидных ядрышек, фибриллярных центров и ядрышковых вакуолей. — Цитология, 1983, т. 25, № 8, с. 863—882.
- Улезско-Строгонова К. П. Материалы к микроскопическому строению последа. — Журн. акушерства и женских болезней, 1895, т. 9, № 4, с. 295—335.
- Улезско-Строгонова К. П. Гигантские клетки в последе, происхождение и вероятное значение их. — Журн. акушерства и женских болезней, 1896, т. 10, № 11, с. 1233—1262.
- Улезско-Строгонова К. П. Нормальная и патологическая анатомия и гистология женских половых органов. М.; Л., 1939. 332 с.
- Уриваева И. В. Полиплоидизирующие митозы и биологический смысл полиплоидии в клетках печени. — Цитология, 1979, т. 21, № 12, с. 1427—1437.
- Фаусек В. А. Паразитизм личинок *Anadonta* (*Parasitismus der Anadonta Larven*). — Зап. Акад. наук, 1903, т. 8, № 6, с. 1—141.
- Фаусек В. А. Живорождение и паразитизм. — В кн.: Биологические этюды. СПб, 1913, с. 6—42.
- Френкель М. А. Содержание ДНК в макронуклеусах и хроматиновых агрегатах делящегося макронуклеуса в цистах размножения инфузории *Colpoda steini*. — Цитология, 1978, т. 20, № 4, с. 465—469.
- Хвостова В. В. Развитие хромосом питающих клеток яичника мухи-тахины *Ernestia consobrina* M. G. — Докл. АН СССР, 1947, т. 57, № 6, с. 621—624.
- Хрущов Н. Г., Бродский В. Я., Кругликов Г. Г. Цитофотометрическое и автордиографическое исследование ДНК ядер гигантских клеток инородных тел. — Цитология, 1963, т. 5, № 6, с. 676—679.
- Хрущов Н. Г., Ланге М. А., Сатдыкова Г. П. Электронно-микроскопическое и радиоавтографическое исследование гигантских клеток инородных тел очага асептического воспаления. — Архив анатомии, гистол. эмбриол., 1978, т. 75, № 8, с. 43—49.
- Ченцова Ю. С., Поляков В. Ю. Ультраструктура клеточного ядра. М., 1974. 175 с.
- Эфроимсон В. П. Введение в медицинскую генетику. М., 1964. 559 с.
- (Якоби В.) *Jacoby W.* Über des rhythmische Wachstum der Zellen durch Verdopplung ihre Volumens. — Arch. Entwicklungsmechanik, 1925, Bd 106, S. 124—192.
- Adams E. C., Hertig A. T. Annulate lamellae in human oocytes in primordial and primary follicles. — J. Cell Biol., 1965, vol. 27, p. 119A.

- Afzelius B. A. The nucleus of *Noctiluca scintillans*. Aspects of nucleocytoplasmic exchange and the formation of nuclear membrane. — *J. Cell Biol.*, 1963, vol. 19, p. 229—238.
- Al-Abbass A. H., Schultz R. L. Phagocytic activity of the rat placenta. — *J. Anat.*, 1966, vol. 100, p. 349—359.
- Alden R. Implantation of the rat egg. 3. Origin and development of primary trophoblast giant cells. — *Amer. J. Anat.*, 1948, vol. 83, p. 143—169.
- Alonso P., Perez-Silva I. Giant chromosomes in Protozoa. — *Nature*, 1965, vol. 205, p. 313—314.
- Ammermann D. Cytologische und genetische Untersuchungen an dem Ciliaten *Stylonychia mytilus* Ehrenberg. — *Arch. Protistenk.*, 1965, Bd 108, S. 109—152.
- Ammermann D. Morphology and development of the macronuclei of the ciliates *Stylonychia mytilus* and *Euplotes aediculatus*. — *Chromosoma*, 1971, vol. 33, p. 209—238.
- Ammermann D., Steinbruck G., von Berger L., Henning W. The development of the macronucleus in the ciliated protozoan *Stylonychia mytilus*. — *Chromosoma*, 1974, vol. 45, p. 401—429.
- Anderson J. W. The placental barrier to gamma-globulin in the rat. — *Amer. J. Anat.*, 1959, vol. 104, p. 403—430.
- Ansell I. D., Barlow P. W., McLaren A. Binucleate and polyploid cells in the decidua of the mouse. — *J. Embryol. Exp. Morphol.*, 1974, vol. 31, p. 223—227.
- Ashburner M. Function and structure of polytene chromosomes during insect development. — *Adv. Insect Physiol.*, 1970, vol. 7, p. 1—95.
- Ashburner M. Puffing patterns in *Drosophila melanogaster* and related species. — In: *Developmental studies on giant chromosomes*. Berlin etc., 1972, p. 101—151.
- Ashburner M., Chihara C., Meltzer P., Richards G. Temporal control of puffing activity in polytene chromosomes. — *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 1974, vol. 38, p. 655—662.
- Atkin N. B. Observation on sex chromatin in human tumours. — In: *Symposium on nuclear sex*. London, 1958, p. 168—176.
- Atlas M., Bond V., Gronkite E. Desoxyribonucleic acid synthesis in the developing mouse embryo studied with tritiated thymidine. — *J. Histochem. Cytochem.*, 1960, vol. 8, p. 171—182.
- Austin C. R. Sex chromatin in embryonic and fetal tissue. — *Acta cytol.*, 1962, vol. 6, p. 61—65.
- Austin C. R., Amoroso E. C. Sex chromatin in early cat embryos. — *Exp. Cell Res.*, 1957, vol. 13, p. 419—421.
- Avanzi S., Cionini P., D'Amato F. Cytochemical and autoradiographic analyses on the embryo and suspensor cells of *Phaseolus coccineus*. — *Caryologia*, 1970, vol. 23, p. 605—638.
- Avery G. B., Hunt C. V. The differentiation of trophoblast giant cells in the mouse, studied in kidney capsule grafts. — *Transplant. Proc.*, 1969, vol. 1, p. 61—66.
- Axelsson M. Sex chromatin in early pig embryos. — *Hereditas*, 1968, vol. 60, p. 347—354.
- Babai F., Trambly G., Dumont A. Intracellular and intranuclear tubular structures in Novikoff hepatoma cells. — *J. Ultrastruct. Res.*, 1969, vol. 28, p. 125—130.
- Back F. X-chromosome activity in prophase. — In: *Chromosomes today* / Ed. C. D. Darlington, K. R. Lewis. Edinburgh, 1969, vol. 3, p. 116.
- Back F. The variable condition of euchromatin and heterochromatin. — *Intern. Rev. Cytol.*, 1976, vol. 45, p. 25—64.
- Baker B. L. Histochemical variations in the metrial gland of the rat during pregnancy and lactation. — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1948, vol. 68, p. 492—496.
- Baker T. G. A quantitative and cytological study of germ cells in human ovaries. — *Proc. Roy. Soc.*, 1963, vol. 158B, p. 433.
- Baker W. W., Mintz B. Subunit structure and gene control of mouse NADP-malate dehydrogenase. — *Biochem. Genet.*, 1969, vol. 2, p. 351—360.
- Balbani E. G. Sur la structure du noyau des cellules salivaires chez les larves de *Chironomus*. — *Zool. Anz.*, 1881, Bd 4, S. 637—641.
- Barlow P. W., Sherman M. I. The biochemistry of differentiation of mouse trophoblast: studies on polyploidy. — *J. Embryol. Exp. Morphol.*, 1972, vol. 27, p. 447—465.
- Barlow P. W., Sherman M. I. Cytological studies on the organization of DNA in giant trophoblast nuclei of the mouse and the rat. — *Chromosoma*, 1974, vol. 47, p. 119—131.
- Barr M. L. Sex chromatin and phenotype in man. — *Science*, 1959, vol. 130, p. 679—685.
- Barr M. L., Bertram E. C. A morphological distinction between neurons of the male and female and the behaviour of the nucleolar satellite during accelerated nucleoprotein synthesis. — *Nature*, 1949, vol. 163, p. 676—677.
- Basile R. Nucleic acid synthesis in nurse cells of *Rhynchosciara angela* nonato and pavan, 1951. — *Genetics*, 1963, vol. 61, p. 261—273.
- Beams H., King R. The origin of binucleate and large mononucleate cells in the liver of the rat. — *Anat. Rec.*, 1942, vol. 83, p. 281—297.
- Beermann W. Riesenchromosomen. — *Protoplasmatologia*, 1962, vol. 6, p. 1—161.
- Beermann W. Chromomeres and genes. — In: *Developmental studies on giant chromosomes*. Berlin etc., 1972, p. 1—33.
- Bennet G. S., Fellini S. A., Holtzer H. 100-A filaments in different cell types: distribution and antigenic specificity. — *J. Cell Biol.*, 1978, vol. 79, p. 261a.
- Berger C. A. Multiplication and reduction of somatic chromosome groups as a regular developmental process in the mosquito *Culex pipiens*. — *Carnegie Contrib. Embryol.*, 1938, vol. 27, p. 209—232.
- Bergstrom S. Shedding of the zona pellucida of the mouse blastocyst in normal pregnancy. — *J. Reprod. Fert.*, 1972, vol. 31, p. 275—277.
- Beutler E. Autosomal inactivation. — *Lancet*, 1963, vol. 1, N 7293, p. 1242—1243.
- Beutler E., Jeh M., Fairbanks V. I. The normal human female as a mosaic of X-chromosome activity: studies using the gene for g-6-pd-deficiency as a marker. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1962, vol. 48, p. 9—16.
- Bier K. Endomitose und Polytanie in den Nahrungskernen von *Calliphora erythrocephala* Moigen. — *Chromosoma*, 1957, vol. 8, p. 493—522.
- Bier K. Karyotyp von *Calliphora erythrocephala* Meigen unter besonderer Berücksichtigung der Nahrungskernchromosomen in gebündelten

- und gepaarten Zustand. — *Chromosoma*, 1960, vol. 11, p. 335—364.
- Bird A. F. Observations on chromosomes and nucleoli in syncytia induced by *Meloidogyne javanica*. — *Physiol. Plant Pathol.*, 1973, vol. 3, p. 387—391.
- Blandau R. J. Embryo-endometrial interrelationship in the rat and guinea pig. — *Anat. Rec.*, 1949, vol. 104, p. 331—359.
- Blandau R. J., Rumery R. Observations on the activity of the cells of the abembryonal pole in the living 6-day-old pig blastocyst. — *Anat. Rec.*, 1957, vol. 127, p. 491.
- Bobrow W. New ways to look at X-inactivation. — *Nature*, 1978, vol. 271, p. 505—506.
- Boivin A., Vendrely K., Vendrely C. L'acide désoxyribonucléique du noyau cellulaire depositaire de caracteres héréditaires. — *C. r. Acad. sci. D*, 1948, vol. 226, p. 1061—1063.
- Borum K. Oogenesis in the mouse. A study of the meiotic prophase. — *Exp. Cell Res.*, 1961, vol. 24, p. 495—507.
- Bourgeois C. A., Hernandez-Verdun D., Hubert H., Bouteille M. Silver staining of NORs in electron microscopy. — *Exp. Cell Res.*, 1979, vol. 123, p. 449—452.
- Bouteille M., Laval M., Dupuy-Coin A. M. Localization of nuclear functions as revealed by ultrastructural autoradiography and cytochemistry. — In: *The cell nucleus*. New York; London, 1974, vol. 1, p. 5—71.
- Boving B. G. Implantation mechanisms. — In: *Conference on physiological mechanisms concerned with conception*. Oxford; New York, 1963, p. 321—396.
- Brady T. Feulgen cytophotometric determination of the DNA content of the embryo proper and suspensor cells of *Phaseolus coccineus*. — *Cell Differ.*, 1973a, vol. 2, p. 65—75.
- Brady T. Cytological studies on the suspensor polytene chromosomes of *Phaseolus*: DNA content and synthesis, and the ribosomal cistrons. — *Caryologia*, 1973b, vol. 25, suppl., p. 233—272.
- Brady T., Clutter M. Structure and Replication of *Phaseolus* polytene chromosomes. — *Chromosoma*, 1974, vol. 45, p. 63—79.
- Bridges C. B., Brehme K. S. The mutants of *Drosophila melanogaster*. Washington, 1944, 517 p.
- Bridgman J. A morphological study of the development of rat placenta. — *J. Morphol.*, 1948a, vol. 83, p. 61—78.
- Bridgman J. A morphological study of the development of the placenta of the rat. 2. Histological and cytological study of the development of the chorioallantoic placenta of the white rat. — *J. Morphol.*, 1948b, vol. 83, p. 195—224.
- Brinkley B. R., Stubblefield E. Ultrastructure and interaction of the kinetochore and centriole in mitosis and meiosis. — In: *Advances in cell biology*. New York, 1974, vol. 1, p. 119—185.
- Bulmer D., Peel S. The demonstration of immunoglobulin in the metrial gland cells of the rat placenta. — *J. Reprod. Fert.*, 1977, vol. 49, p. 143—145.
- Callan H. G. The nature of lampbrush chromosomes. — *Int. Rev. Cytol.*, 1963, vol. 15, p. 1—33.
- Cassagnau P. Sur la structure des chromosomes salivaires de *Bilobella massoudi* Cassagnau (Collembola, Neanuridae). — *Chromosoma*, 1968, Bd 24, S. 42—58.
- Cassagnau P. Polyploidie, polyténie, oligoténie dans les glandes salivaires de *Contarinia pirivora* (Ril.) Kieff. (Diptères, Cecidomyiides). — *C. r. Acad. Sci. D*, 1970, vol. 271, p. 223—225.
- Cassagnau P. Les chromosomes polytènes de *Neanura monticola* Cassagnau (Collembola). 1. Polymorphisme écologique du chromosome X. — *Chromosoma*, 1974, vol. 46, p. 343—363.
- Chandra S. H., Brown S. W. Regulation of inactivation of the mammalian X-chromosome. — In: *Proc. Symp. Biol. Approach Problems Med., Industr. and Agr. Bombay*, 1974, S. 1, S. a., p. 12.
- Chapman V., Ansell J., McLaren A. Trophoblast giant cell differentiation in the mouse: expression of glucosephosphate isomerase (GPI-1). Electrophoretic variants in transferred and chimeric embryos. — *Develop. Biol.*, 1972, vol. 29, p. 48—54.
- Chouinard L. A. Localization of internucleolar DNA in root meristematic cells of *Allium cepa*. — *J. Cell Sci.*, 1970, vol. 6, p. 73—85.
- Chouinard L. A. A light and electron-microscope study of the nucleolus during growth of the oocyte in the prepubertal mouse. — *J. Cell Sci.*, 1971, vol. 9, p. 637—663.
- Chouinard L. A. An electron-microscope study of the extranucleolar bodies during growth of the oocyte in the prepubertal mouse. — *J. Cell Sci.*, 1973, vol. 12, p. 55—70.
- Chouinard L. A. An electron-microscope study of the intranucleolar chromatin in root meristematic cells of *Allium cepa*. — *J. Cell Sci.*, 1974, vol. 15, p. 645—657.
- Chouinard L. A. A light and electron-microscope study of the oocytes nucleus during development of the antral follicle in the prepubertal mouse. — *J. Cell Sci.*, 1975a, vol. 17, p. 589—615.
- Chouinard L. A. An electron-microscope study of the intranucleolar chromatin during nucleologenesis in root meristematic cells of *Allium cepa*. — *J. Cell Sci.*, 1975b, vol. 19, p. 85—101.
- Clutter M., Brady T., Welbat V., Sussex I. Macromolecular synthesis during plant embryogeny. — *J. Cell Biol.*, 1974, vol. 63, p. 1097—1102.
- Comings D. E. The duration of replication of the inactive X-chromosome in human based on the persistence of the heterochromatic sex chromatin body during DNA replication. — *Cytogenetics*, 1967, vol. 6, p. 20—37.
- D'Amato F. New evidence on endopolyploidy in differentiated plant tissues. — *Caryologia*, 1952, vol. 4, p. 121—144.
- D'Amato F. Nuclear cytology in relation to development. Cambridge, 1977, 283 p.
- Defendi V., Manson A. Analysis of the life-cycle in mammalian cells. — *Nature*, 1963, vol. 198, p. 359—361.
- Denker H. W. Protease substrate film test. — *Histochemie*, 1974a, vol. 38, p. 331—338.
- Denker H. W. Trophoblastic factors involved in lysis of the blastocyst coverings and in implantation in the rabbit: observations on inversely orientated blastocyst. — *J. Embryol. Exper. Morphol.*, 1974b, vol. 32, p. 739—748.
- Dickson A. D., Bulmer D. Observations on the placental giant cells of the rat. — *J. Anat.*, 1960, vol. 94, p. 418—424.
- Dickson A. D., Bulmer D. Observations on the origin of metrial gland cells in the rat

- placenta. — *J. Anat.*, 1961, vol. 95, p. 262—273.
- Dorgan W. I., Schultz R. L. An in vitro study of programmed death in rat placental giant cells. — *J. Exp. Zool.*, 1971, vol. 178, p. 497—512.
- Drogleever F. A. B. The involution of the placenta in the mouse after the death of the embryo. — *K. A. Ned. Wetensch. Anat. Proc. Sect. Sci.*, 1919, vol. 21, p. 231—234.
- Dupuy-Coin A. M., Bouteille M. Developmental pathway of granular and beaded nuclear bodies from nucleoli. — *J. Ultrastruct. Res.*, 1972, vol. 40, p. 55—67.
- Duval M. Le placenta des rongeurs. — *J. Anat. Physiol.*, 1891, vol. 27, p. 24—73.
- Enders A. C., Schlafke S. The fine structure of the blastocyst: some comparative studies. — In: *Preimplantation stages of pregnancy*. London, 1965, p. 29—54.
- Enders A. C., Schlafke S. Cytological aspects of trophoblast-uterine interaction in early implantation. — *Amer. J. Anat.*, 1969, vol. 125, p. 1—30.
- Epstein C. I., Smith S., Travis B., Tucker G. Both X-chromosomes function before visible X-chromosome inactivation in female mouse embryos. — *Nature*, 1978a, vol. 274, p. 500—503.
- Epstein C. I., Travis B., Tucker G., Smith S. The direct demonstration of an X-chromosome dosage effect prior to inactivation. — In: *Genetic mosaics and chimeras mammals*. New York; London, 1978b, p. 261—267.
- Erbrich P. Über endopolyploidie und Kernstrukturen in Endospermgaustorien. — *Österr. bot. Ztschr.*, 1965, Bd 112, S. 198—262.
- Erickson K. P. Glucose-6-phosphate dehydrogenase activity changes during spermatogenesis: possible relevance to X-chromosome inactivation. — *Develop. Biol.*, 1976, vol. 53, p. 134—137.
- Fawcett D. W., Wislocki G., Waldo C. M. The development of mouse ova in the anterior chamber of the eye in the abdominal cavity. — *Amer. J. Anat.*, 1947, vol. 81, p. 413—444.
- Fill A., Moens P. B. The development structure and function of modified synaptonemal complexes in mosquito oocytes. — *Chromosoma*, 1973, vol. 41, p. 37—62.
- Finn C. A., Lawn A. M. Transfer of cellular material between the uterine epithelium and trophoblast during early stages of implantation. — *J. Reprod. Fert.*, 1968, vol. 15, p. 333—336.
- Franke H. *Feinstruktur der Plazenta*. Jena, 1969. 340 S.
- Frels W. I., Chapman V. M. Expression of the maternally derived X-chromosome in the mural trophoblast of the mouse. — *J. Embryol. Exp. Morphol.*, 1980, vol. 56, p. 179—190.
- Frels W. I., Rossant L., Chapman V. M. Maternal X-chromosome expression in mouse chorionic ectoderm. — *Dev. Genet.*, 1979, vol. 1, p. 123—132.
- Fuseler I. W., Feit H., Shey I. W. The distribution of three classes of 10 nm filaments in rat myocardial cells. — *J. Cell Biol.*, 1978, vol. 79, p. 275a.
- Gabrusewicz-Garsia N., Garsia A. M. Studies on the fine structure of puffs in *Sciara coprophila*. — *Chromosoma*, 1974, vol. 47, p. 385—401.
- Gage L. P. Polyploidization of the silk gland of *Bombyx mori*. — *J. Mol. Biol.*, 1974, vol. 86, p. 97—108.
- Galassi L. Reutilisation of maternal nuclear material by embryonic and trophoblastic cells in the rat for the synthesis of deoxyribonucleic acid. — *J. Histochem. Cytochem.*, 1967, vol. 15, p. 573—579.
- Garcia A. Feulgen-DNA values in megakaryocytes. — *J. Cell Biol.*, 1964, vol. 20, p. 342—345.
- Gardner R. L. An investigation of inner cell mass and trophoblast tissue following their isolation from the mouse blastocyst. — *J. Embryol. Exp. Morphol.*, 1972, vol. 28, p. 279—312.
- Gardner R. L., Papaioannou V. E. Differentiation in the trophectoderm and inner cell mass. — In: *The early development of mammals*. Cambridge, 1975, p. 107—132.
- Gartler S. M., Andina R., Gant N. Ontogeny of X-chromosome inactivation in the female germ line. — *Exp. Cell Res.*, 1975, vol. 91, p. 454—457.
- Gates R. Nucleoli and related nucleolar structures. — *Bot. Rev.*, 1942, vol. 8, p. 337—409.
- Gearhart I. D., Mintz B. Glucosylphosphate isomerase subunit reassociation test for maternal-fetal and fetal-fetal cell fusion in the mouse placenta. — *Develop. Biol.*, 1972, vol. 29, p. 55—64.
- Geitler L. Das Heterochromatin der Geschlechtschromosomen bei Heteropteren. — *Chromosoma*, 1939, vol. 1, p. 197—229.
- Geitler L. Endomitose und endomitotische Polyploidisierung. — *Protoplasmatologia*, 1953, vol. 60, p. 1—89.
- Glenister T. W. Determination of sex in early human embryos. — *Nature*, 1956, vol. 177, p. 1135—1136.
- Goessens G. Les «centres fibrillaires» des nucléoles des cellules tumorales d'Ehrlich. — *C. r. Acad. Sci. D.*, 1973, vol. 277, p. 325—327.
- Goessens G. Etude autoradiographique au microscope électronique des nucléoles de cellules tumorales d'Ehrlich. Mise en évidence d'ADN au niveau des centres fibrillaires. — *C. r. Acad. Sci. D.*, 1974, vol. 279, p. 991—993.
- Goessens G. High resolution autoradiographic studies of Ehrlich tumour cell nucleoli. Nucleolar labelling after ^3H actinomycin D binding to DNA of after ^3H thymidine or ^3H uridine incorporation in nucleic acids. — *Exp. Cell Res.*, 1976a, vol. 100, p. 88—94.
- Goessens G. The nucleolar fibrillar centres in various cell types in vivo and in vitro. — *Cell Tissue Res.*, 1976b, vol. 173, p. 315—324.
- Goessens G., Lepoint A. The fine structure of the nucleolus during interphase and mitosis in Ehrlich tumor cells cultivated in vitro. — *Exp. Cell Res.*, 1974, vol. 87, p. 63—72.
- Goessens G., Lepoint A. The nucleolus-organizing regions (NOR's): recent data and hypotheses. — *Biol. Cell.*, 1979, vol. 35, p. 211—220.
- Graham C. F. The necessary conditions for gene expression during early mammalian development. — In: *Genetic mechanism of development: The 31st Symp. Soc. Develop. Biol.* New York, 1973, p. 202—224.
- Graham M. A. Sex chromatin in cell nuclei of the cat from the early embryo to maturity. — *Anat. Rec.*, 1954, vol. 119, p. 469—485.
- Grell M. Cytological studies in *Culex*. I. Somatic reduction division. — *Genetics*, 1946, vol. 31, p. 60—70.
- Grell K. G. Die Chromosomen von *Aulacantha*

- scolymantha Haeckel. — Arch. Protistenk., 1953, Bd 99, S. 1—54.
- Grobstein C. Production of intra-ocular hemorrhage by mouse trophoblast. — J. Exp. Zool., 1950, vol. 114, p. 359—374.
- Grumbach M., Morishima A. Sex chromatin and sex chromosomes: on the origin of sex chromatin from a single X-chromosome. — Acta cyt., 1962, vol. 6, p. 46—51.
- Gypson R. A., Anderson E. V. Comparison of intermedial filaments from three bovine tissues. — J. Cell Biol., 1978, vol. 79, p. 260a.
- Hamerton J. L. Sex chromatin and human chromosomes. — Intern. Rev. Cytol., 1961, vol. 12, p. 1—69.
- Hartung M., Mirre C., Stahl A. Nucleolar organizers in human oocytes at meiotic prophase I studied by the silver-NOR method and electron microscopy. — Hum. Genet., 1979, vol. 52, p. 295—308.
- Hasitschka G. Bildung von Chromosomenbündeln nach Art der Speicheldrüsenchromosomen, spiralisierte Ruhekernechromosomen und andere Struktureigentümlichkeiten in den endopolyploiden Riesenkernen der Antipoden von Papaver rhoeas. — Chromosoma, 1956, vol. 8, p. 87—113.
- Hasitschka-Jenschke G. Die Entwicklung der Samenanlage von Allium ursinum mit besonderer Berücksichtigung der endopolyploiden Kerne in Synergiden und Antipoden. — Österr. bot. Ztschr., 1957, Bd 104, S. 1—24.
- Hasitschka-Jenschke G. Vergleichende karyologische Untersuchungen an Antipoden. — Chromosoma, 1959, vol. 10, p. 229—267.
- Heitz E. Heterochromatin, Chromozentren, Chromomeren. — Ber. Dtsch. bot. Ges., 1929, Bd 47, S. 274—284.
- Heitz E. Über Grosskerne bei Collembolen. — Zool. Anz., 1951, Bd 146, S. 197—201.
- Heitz E., Bauer H. Beweise für die Chromosomenstruktur der Kernschleifen in den Knaulenkernen von Bibio hortulanus L. — Ztschr. Zellforsch., 1933, Bd 17, S. 67—82.
- Henderson S. A. The salivary gland chromosomes of Dasyneura crategi (Diptera: Cecidomyiidae). — Chromosoma, 1967a, vol. 23, p. 38—58.
- Henderson S. A. A second example of normal coincident endopolyploidy and polyteny in salivary gland nuclei. — Caryologia, 1967b, vol. 20, p. 181—186.
- Hernandez-Verdun D. Etude cytochimique du corps glomérulaire dans le trophoblaste de Souris. — J. Ultrastruct. Res., 1972, vol. 40, p. 68—86.
- Hernandez-Verdun D., Bouteille M. Nucleogenesis in chick erythrocyte nuclei reactivated by cell fusion. — J. Ultrastruct. Res., 1979, vol. 69, p. 164—179.
- Hernandez-Verdun D., Legrand C. Differentiation du trophoblaste au cours du développement in vitro d'embryon de souris. — J. Embryol. Exp. Morphol., 1971, vol. 25, p. 175—187.
- Hernandez-Verdun D., Hubert I., Bourgeois C., Bouteille M. Identification ultrastructure de l'organisateur nucléolaire par la technique à l'argent. — C. r. Acad. Sci. D, 1978, vol. 287, p. 1421.
- Hernandez-Verdun D., Bourgeois C. A., Bouteille M. Simultaneous nucleogenesis in daughter cells during the late telophase. — Biol. Cell., 1980, vol. 37, p. 1—4.
- Hertig A. T. The primary human oocyte: some observations on the fine structure of Balbiani's vitelline body and the origin of annulate lamellae. — Amer. J. Anat., 1968, vol. 122, p. 107—137.
- Hertig A. T., Adams E. C. Studies on the human oocyte and its follicle. I. Ultrastructural and histochemical observations on the primordial follicle stage. — J. Cell Sci., 1967, vol. 34, p. 647—675.
- Hertig A. T., Rock J., Adams E. C. A description of 34 human ova within the first 17 days of development. — Amer. J. Anat., 1956, vol. 98, p. 438—493.
- Hesse M. Karyologische Anatomie von Zoocecidien und ihre Kernstrukturen. — Österr. bot. Ztschr., 1968, Bd 115, S. 34—83.
- Hesse M. Anatomische und karyologische Untersuchungen an der Galle von Mayetiola poae auf Poa nemoralis. — Österr. bot. Ztschr., 1969, Bd 117, S. 411—425.
- Hesse M. Häufigkeit und Mechanismen der durch gallbildende Organismen ausgelösten somatischen Polyploidisierung. — Österr. bot. Ztschr., 1971, Bd 119, S. 454—463.
- Hesse M. Eine Blattflöhgalle auf Convolvulus canariense mit einer Gallmilbe als Inguilinen. 2. Karyologische Anatomie. — Bot. Mitt. Linz., 1972, Bd 4, S. 19—26.
- Hill R. N., Yunis J. J. Mammalian X-chromosomes: changes in patterns of DNA replication during embryogenesis. — Science, 1967, vol. 155, p. 1120—1121.
- Hillman N., Sherman M. J., Graham C. F. The effect of spatial arrangement on cell determination during mouse development. — J. Embryol. Exp. Morphol., 1972, vol. 28, p. 263—278.
- Hinrichsen K., Gothe H. D. Morphologische und statistische Untersuchungen an Zellkernen von Ratten und Mäusen zur Frage einer cytologischen Geschlechtsdiagnostik. — Ztschr. Zellforsch., 1958, Bd 48, S. 429—449.
- Holtrop M. E., Raisz L. G., Simmons H. A. The effects of parathyroid hormone, colchicine, and calcitonin on the ultrastructure and the activity of osteoclasts in organ culture. — J. Cell Biol., 1974, vol. 60, p. 346—355.
- Howard A., Pelc S. R. Synthesis of DNA in normal and irradiated cells and its relation to chromosome breakage. — Heredity, 1953, suppl., vol. 6, p. 261—269.
- Hunt C. V., Avery G. B. Increased levels of deoxyribonucleic acid during trophoblast giant-cell formation in mice. — J. Reprod. Fert., 1971, vol. 25, p. 85—94.
- Ilgren E. B. The initiation and control of trophoblastic growth in the mouse: binucleation and polyploidy. — Placenta, 1981, vol. 2, p. 317—332.
- Ishizaki H., Kosin I. L. Sex chromatin in early chick embryos. — Exp. Cell Res., 1960, vol. 21, p. 197—259.
- Issa M., Blank C. E., Atherton C. W. The temporal appearance of sex and the late-replicating X-chromosomes in blastocysts of the domestic rabbit. — Cytogenetics, 1969, vol. 8, p. 219—237.
- Jollie W. P. The persistence of trophoblast on extrauterine tissues in rat. — Amer. J. Anat., 1960, vol. 106, p. 109—115.
- Jollie W. P. Radioautographic observations on variations in deoxyribonucleic acid synthesis in rat placenta with increasing gestational age. — Amer. J. Anat., 1964, vol. 114, p. 161—167.
- Jollie W. P. Fine structural changes in the

- junctional zone of the rat placenta with increasing gestation age. — *J. Ultrastruct. Res.*, 1965, vol. 12, p. 420—438.
- Jollie W. P. Nuclear and cytoplasmic annulate lamellae in trophoblast giant cells of rat placenta. — *Anat. Rec.*, 1969, vol. 165, p. 1—14.
- Jordan E. G., Luck B. T. The nucleolus organizer and synaptonemal complex in *Endymion non-scriptus* (L.). — *J. Cell Sci.*, 1976, vol. 22, p. 75—86.
- Jzequel A. M., Bernhard W. Modifications ultrastructurales du pancréas exocrine de rat sans l'effet de l'actinomycine D. — *J. Microsc.* (France), 1964, vol. 3, p. 279—296.
- Kahan B. The stability of X-chromosome inactivation: studies with mouse-human cell hybrids and mouse teratocarcinomas. — In: *Genetic mosaics and chimeras mammals*. New York, London, 1978, p. 297—328.
- Kahan B., De Mars R. Localized derepression on human inactive X-chromosome in mouse human cell hybrids. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1975, vol. 75, p. 1510—1514.
- Kanda N., Yosida T. H. Identification of the facultative heterochromatic X-chromosome in female of 25 rodent species. — *Cytogenet. Cell Genet.*, 1978, vol. 23, p. 12—22.
- Kessel R. Electron microscopic studies on the origin of annulate lamellae in oocytes of *Necturus*. — *J. Cell Biol.*, 1963, vol. 19, p. 391—414.
- Kessel R. G. Electron microscopic studies on oocytes of an echinoderm, *Thyone briareus* with special reference to the origin and structure of the annulate lamellae. — *J. Ultrastruct. Res.*, 1964, vol. 110, p. 498—514.
- Kessel R. G. Intranuclear and cytoplasmic annulate lamellae in tunicate oocytes. — *J. Cell Biol.*, 1965, vol. 24, p. 471—488.
- Kessel R. G., Beams A. W. Intranuclear membranes and nuclear-cytoplasmic exchange in young crayfish oocytes. — *J. Cell Biol.*, 1968, vol. 39, p. 735—741.
- Kessel R. G., Beams H. W. Annulate lamellae and «yolk nuclei» in oocytes of *Dragonfly*, *Libellula pulchella*. — *J. Cell Biol.*, 1969, vol. 42, p. 105—201.
- Keyl H., Pelling C. Differentielle DNS-Replikation in den Speicheldrüsen Chromosomen von *Chironomus thummi*. — *Chromosoma*, 1963, vol. 14, p. 347—358.
- King R. C. Ovarian development in *Drosophila melanogaster*. New-York; London, 1970. 227 p.
- King T., Burnett A. Autoradiographic study of uptake of tritiated glycine, thymidine and uridine by fruit fly ovaries. — *Science*, 1959, vol. 129, p. 1674—1675.
- Kirby D. R. S. Development of mouse eggs under the kidney capsule. — *Nature*, 1960, vol. 187, p. 707—708.
- Kirby D. R. S. The development of mouse blastocysts transplanted to the scrotal and cryptorchid testis. — *J. Anat.*, 1963, vol. 97, p. 119—130.
- Kirchner C. Uterine protease activities and lysis of the blastocyst covering in the rabbit. — *J. Embryol. Exp. Morphol.*, 1972, vol. 28, p. 177—183.
- Klinger H. P., Schwarzscher H. G. Amount of sex chromatin in female tissues is correlated with degree of tissue ploidy. — *Nature*, 1958, vol. 181, p. 1150—1152.
- Klinger H. P., Schwarzscher H. G. The sex chromatin and heterochromatic bodies in human diploid and polyploid nuclei. — *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 1960, vol. 8, p. 345—364.
- Klinger H. P., Schwarzscher H. G., Weiss J. DNA content and size of sex chromatin positive nuclei during the cell cycle. — *Cytogenetics*, 1967, vol. 6, p. 1—19.
- Kloetzel I. A. Compartmentalization of the developing macronucleus following conjugation in *Stylonychia* and *Euplotes*. — *J. Cell Biol.*, 1970, vol. 47, p. 395—407.
- Kozak L. P., Quinn P. J. Evidence for dosage compensation of an X-linked gene in the 6-day embryo of the mouse. — *Develop. Biol.*, 1975, vol. 45, p. 67—73.
- Kratzer P. G., Gartler S. M. HGPRT activity changes in preimplantation mouse embryos. — *Nature*, 1978, vol. 274, p. 503—504.
- Krehbiel R. H. Cytological studies of the decidual reactions in the rat during early pregnancy and in the production of deciduomata. — *Physiol. Zool.*, 1937, vol. 10, p. 212—234.
- Kusanagi A. Asynchronous DNA replication of sex-chromatin in interphase nuclei: of male sorrel plant, *Rumex acetosa*. — *Bot. Mag.*, 1963, vol. 76, p. 199—200.
- Lafontaine J. G. Structural components of the nucleus in mitotic plant cells. — In: *The Nucleus*. New York, 1968, p. 151—196.
- Lafontaine J. G., Chouinard L. A. A correlated light and electron microscope study of nucleolar material during mitosis in *Vicia faba*. — *J. Cell Biol.*, 1963, vol. 17, p. 167—201.
- Lafontaine J. G., Lord A. An ultrastructural and radioautographic investigations of the nucleolonemal component of plant interphase nucleoli. — *J. Cell Sci.*, 1973, vol. 12, p. 369—383.
- Lafontaine J. G., Lord A. A correlated light- and electron microscope investigation of the structural evolution of the nucleolus during the cell cycle in plant meristematic cells (*Allium porrum*). — *J. Cell Sci.*, 1974, vol. 16, p. 63—93.
- Larkin L. H., Schultz R. L. Histochemical and autoradiographic studies of the formation of the metrial gland in the pregnant rat. — *Amer. J. Anat.*, 1968, vol. 122, p. 607—619.
- Larsen J. P. Electron microscopy of the implantation site in the rabbit. — *Amer. J. Anat.*, 1961, vol. 109, p. 319—334.
- Lasek R. I., Dower W. I. Aplysia californica analysis of nuclear DNA in individual nuclei of giant neurons. — *Science*, 1971, vol. 172, p. 278—280.
- Lazarides E. The distribution of desmin (100 A) filaments of primary cultures of embryonic chick cardiac cells. — *Exp. Cell Res.*, 1978, vol. 112, p. 265—270.
- Levan A., Hauschka T. S. Endomitotic reduplication mechanisms in ascites tumors of the mouse. — *J. Nat. Cancer Inst.*, 1953, vol. 14, p. 1—43.
- Lindmark C., Melander J. Sex chromatin in pre-implantation embryos of the Syrian hamster. — *Hereditas*, 1970, vol. 64, p. 128—131.
- Lindsay H. A., Barr M. L. Further observations on the behaviour of nuclear structures during depletion and restoration of Nissl material. — *J. Anat.*, 1955, vol. 89, p. 47—62.
- Linzbach A. Quantitative Biologie und Morphologie des Wachstums einschliesslich Hypertrophie

- und Riesenzellen. — Handb. allg. Pathol., 1955, Bd 6, S. 254—280.
- Lipp C. Über Kernwachstum, Endomitosen und Funktionszyklen in den trichogenen Zellen von *Corixa punctata* Illig. — *Chromosoma*, 1953, vol. 5, p. 454—486.
- Lockshin R. A., Pexider T. Cell death in the morphogenesis and teratogenesis of the heart. — *Adv. Anat., Embryol. Cell Biol.*, 1975, vol. 51, p. 1—100.
- Loeb Leo. Production of deciduomata. — *J. Amer. Med. Assoc.*, 1908, vol. 50, p. 1897—1901.
- Loeb Leo. Beiträge zur Analyse des Gewebewachstums. 3. Die Erzeugung von Deciduen in dem Uterus des Kaninchens. — *Arch. Entwicklungsmech. Organismen*, 1909, Bd 27, S. 89—98.
- Long J., Evans H. The oestrous cycle in the rat and its associated phenomena. — *Calif. Mem. Univ.*, 1922, vol. 6, p. 1—148.
- Longo F. Effects of puromycin and actinomycin D on fertilized rabbit eggs cultured in vitro. — *J. Exp. Zool.*, 1978, vol. 203, p. 223—251.
- Lord A., Nicolo L., Lafontaine J. G. Ultrastructural and radioautographic investigation of the nucleolar cycle of *Physarum polycephalum*. Characterization of DNA containing subunits. — *J. Cell Sci.*, 1977, vol. 23, p. 25—42.
- Lyon M. F. Gene action in the X-chromosome of the mouse (*Mus musculus* L.). — *Nature*, 1961, vol. 190, p. 372—373.
- Lyon M. F. Attempts to test the inactive-X theory of dosage compensation in mammals. — *Genet. Res.*, 1963, vol. 4, p. 93—103.
- Lyon M. F. Evolution of X-chromosome inactivation in mammals. — *Nature*, 1974, vol. 250, p. 651—653.
- Markes G. E., Davies D. R. The cytology of cotyledon cells and the induction of giant polytene chromosomes in *Pisum sativum*. — *Protoplasma*, 1979, vol. 101, p. 73—80.
- Matano Y. Electron microscope study of diploid spermatids in human spermatogenesis. — In: *Proc. XII Intern. Congr. genet. Tokyo*, 1968, p. 194.
- Matuszewski B. Polyploidy and polyteny induced by a hymenopteran parasite in *Dasyneura urtica* (Diptera, Cecidomyiidae). — *Chromosoma*, 1964, vol. 15, p. 31—35.
- Matuszewski B. Transition from polyteny to polyploidy in salivary glands of *Cecidomyiidae*. — *Chromosoma*, 1965, vol. 16, p. 22—34.
- (Mazia D.) Мэзия Д. Митоз и физиология клеточного цикла. М., 1963. 429 с.
- McIlree H. E., Tulloch W. S., Newsam I. E. Studies on human meiotic chromosomes from testicular tissue. — *Lancet*, 1966, vol. 1, p. 679—685.
- McLaren A., Tarkowski A. K. Implantation of mouse eggs in the peritoneal cavity. — *J. Reprod. Fert.*, 1963, vol. 6, p. 385—392.
- Mechelke F. Reversible Strukturmodifikationen der Speicheldrüsen-chromosomen von *Acrisotopus lucidus*. — *Chromosoma*, 1953, vol. 5, p. 511—543.
- Melander Y. Chromosomal behaviour during the origin of sex chromatin in the rabbit. — *Hereditas*, 1962, vol. 48, p. 645—661.
- Mello M. L. S. Mechanism of polyploidisation in the malpighian tubes of blood-sucking reduviid hemipterans. — *Rev. brasil. genet.*, 1978, vol. 1, p. 97—102.
- Miller O. L., Beatty B. R. Visualization of nucleolar genes. — *Science*, 1969, vol. 164, p. 955—957.
- Mintz B., Baker W. W. Normal mammalian muscle differentiation and gene control of isocitrate dehydrogenase synthesis. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1967, vol. 58, p. 592—598.
- Mirre C., Knibiehler B. A re-evaluation of the relationship between the fibrillar centres and the nucleolus-organizing regions in reticulated nucleoli: ultrastructural organization, number and distribution of the fibrillar centres in the nucleolus of the mouse Sertoli cells. — *J. Cell Sci.*, 1982, vol. 55, p. 247—259.
- Mirre C., Stahl A. Ultrastructural study of nucleolar organizers in the quail oocyte during meiotic prophase I. — *J. Ultrastruct. Res.*, 1976, vol. 56, p. 186—201.
- Mirre C., Stahl A. Ultrastructure and activity of the nuclear organizer in the mouse oocyte during meiotic prophase. — *J. Cell Sci.*, 1978a, vol. 31, p. 79—100.
- Mirre C., Stahl A. Peripheral RNA synthesis of fibrillar center in nucleoli of Japanese quail oocyte and somatic cells. — *J. Ultrastruct. Res.*, 1978b, vol. 64, p. 377—387.
- Mirre C., Stahl A. Ultrastructural organization, sites of transcription and distribution of fibrillar centres in the nucleolus of the mouse oocyte. — *J. Cell Sci.*, 1981, vol. 48, p. 105—126.
- Monk M., Harper M. J. Sequential X-chromosome inactivation coupled with cellular differentiation in early mouse embryos. — *Nature*, 1979, vol. 281, p. 311—313.
- Monneron A., Bernhard W. Fine structural organization of the interphase nucleus in some mammalian cells. — *J. Ultrastruct. Res.*, 1969, vol. 27, p. 266—268.
- Moore K. L. The sex-chromatin: its discovery and variation in the animal kingdom. — *Acta cytol.*, 1962, vol. 6, p. 1—11.
- Morishima M., Grumbach M., Taylor H. Asynchronous duplication of human chromosomes and the origin of sex chromatin. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1962, vol. 48, p. 756—763.
- Mukherjee B. B., Ghosal S. K. Replicative differentiation of mammalian sex-chromosomes during spermatogenesis. — *Exp. Cell Res.*, 1969, vol. 54, p. 101—106.
- Muller H. G. On the dimensions of chromosomes and genes in dipteran salivary glands. — *Amer. Natur.*, 1935, vol. 69, p. 405—411.
- Murti K. G. Electron-microscopic observations on the macronuclear development of *Stylonychia mytilus* and *Tetrahymena pyriformis* (Ciliophora, Protozoa). — *J. Cell Sci.*, 1973, vol. 13, p. 479—509.
- Nadal C., Zajdela F. Polyploidie somatique dans le foie de rat. 1. Le rôle des cellules binucléées dans la genèse des cellules. — *Exp. Cell Res.*, 1966a, vol. 42, p. 99—116.
- Nadal C., Zajdela F. Polyploidie somatique dans le foie de rat. 2. Le rôle de l'hypophyse et de la carence protéique. — *Exp. Cell Res.*, 1966b, vol. 42, p. 117—129.
- Nagl W. 4096-Ploidie und «Riesenchromosomen» in Suspensor von *Phaseolus coccineus*. — *Naturwissenschaften*, 1962a, Bd 49, S. 261—262.
- Nagl W. Über Endopolyploidie, Restitutionskernbildung und Kernstrukturen im Suspensor von Angiospermen und einer Gymnosperme. — *Österr. bot. Ztschr.*, 1962b, Bd 109, S. 432—495.

- Nagl W. Die Riesenchromosomen von *Phaseolus coccineus* L.: Baueigentümlichkeiten. Strukturmodifikationen, zusätzliche Nucleolen und Vergleich mit den mitotischen Chromosomen. — Österr. bot. Ztschr., 1967, Bd 114, S. 171—182.
- Nagl W. Der mitotische und endomitotische Kernzyklus bei *Allium carinatum*. 1. Struktur, Volumen und DNS-Gehalt der Kerne. — Österr. bot. Ztschr., 1968, Bd 115, S. 322—353.
- Nagl W. Banded polytene chromosome in the legume *Phaseolus vulgaris*. — Nature, 1969a, vol. 221, p. 70—71.
- Nagl W. Correlation of structure and RNA synthesis in the nucleolus-organizing polytene chromosomes of *Phaseolus vulgaris*. — Chromosoma, 1969b, vol. 28, p. 85—91.
- Nagl W. The mitotic and endomitotic nuclear cycle in *Allium carinatum*. 2. Relation between DNA replication and chromatin structure. — Caryologia, 1970a, vol. 23, p. 71—78.
- Nagl W. Inhibition of polytene chromosome formation in *Phaseolus* by polyploid mitoses. — Cytologia, 1970b, vol. 35, p. 252—258.
- Nagl W. On mercaptoethanol-induced polyploidization in *Allium cepa*. — Protoplasma, 1970c, vol. 70, p. 349—360.
- Nagl W. Temperature-dependent functional structures in the polytene chromosomes of *Phaseolus*, with special reference to the nucleolus organizers. — Cell Sci., 1970d, vol. 6, p. 87—107.
- Nagl W. Differentielle RNS-Synthese an pflanzlichen Riesenchromosomen. — Ber. Dtsch. bot. Ges., 1970e, Bd 83, S. 301—309.
- Nagl W. Spontane Fragmentation endopolyploider Kerne in Dauergewebe von *Allium*-Arten. — Österr. bot. Ztschr., 1970f, Bd 118, S. 431—442.
- Nagl W. Differential inhibition by actinomycin D and histone fl of mitosis and endomitosis in *Allium carinatum*. — Ztschr. Pflanzenphysiol., 1970g, Bd 26, S. 1390—1391.
- Nagl W. Gibberellinsäure-stimulierte Genaktivität in Endosperm von *Phaseolus*. — Planta, 1971, Bd 96, S. 145—151.
- Nagl W. Molecular and structural aspects of the endomitotic chromosome cycle in angiosperms. — In: Chromosomes Today. Edinburgh; London, 1972a, vol. 3, p. 17—23.
- Nagl W. Giant sex chromatin in endopolyploid trophoblast nuclei of the rat. — Experientia, 1972b, vol. 28, p. 217—218.
- Nagl W. Photoperiodic control of activity of the suspensor polytene chromosomes in *Phaseolus vulgaris*. — Ztschr. Pflanzenphysiol., 1973a, Bd 70, S. 350—357.
- Nagl W. Origin and fate of micronucleoli in giant cells of the *Phaseolus* suspensor. — Nucleus, 1973b, vol. 16, p. 100—109.
- Nagl W. The mitotic and endomitotic nuclear cycle in *Allium carinatum*. 4. ^3H -uridine incorporation. — Chromosoma, 1973c, vol. 44, p. 203—212.
- Nagl W. The angiosperm suspensor and the mammalian trophoblast: organs with similar cell structure and function. — Bull. Soc. bot. Française Mem., 1973d, vol. 119, p. 289—302.
- Nagl W. The *Phaseolus* suspensor and its polytene chromosomes. — Ztschr. Pflanzenphysiol., 1974, Bd 73, S. 1—44.
- Nagl W. Nuclear organization. — Annu. Rev. Plant Physiol., 1976a, vol. 27, p. 39—69.
- Nagl W. Ultrastructure of the polytene nuclei in the embryo-suspensor of the bean, *Phaseolus coccineus*: toothing of cytoplasm and nucleoplasm. — Nature Life (Korea), 1976b, vol. 6, p. 11—17.
- Nagl W. Early and late DNA replication in respectively condensed and decondensed heterochromatin of *Allium carinatum*. — Protoplasma, 1977, vol. 91, p. 389—407.
- Nagl W. Endopolyploidy and polyteny in differentiation and evolution. Towards and understanding of quantitative and qualitative variation of nuclear DNA in ontogeny and phylogeny. Amsterdam etc., 1978, 283 p.
- Nagl W. Polytene chromosomes of plants. — Intern. Rev. Cytol., 1981, vol. 73, p. 21—53.
- Nesbitt M. N. X-chromosome inactivation mosaicism in the mouse. — Develop. Biol., 1971, vol. 28, p. 252—263.
- Nielson F. Action exercée par le corps jeune sur la maturation des follicles et sur la chaleur de la lapine. — Comp. Rendues Soc. Biol., Paris, 1921, vol. 85, p. 368.
- Noel J. S., Dewey W. C., Abel J. H., Thompson R. P. Ultrastructure of the nucleolus during the Chinese hamster cell cycle. — J. Cell Biol., 1971, vol. 49, p. 830—847.
- Nur U. Nonreplication of heterochromatic chromosomes in a mealy bug, *Planococcus citri* (Coccoidea, Homoptera). — Chromosoma, 1966, vol. 19, p. 439—448.
- Nur U. Reversal heterochromatization and the activity of the paternal chromosome set in the male mealy bug. — Genetics, 1967, vol. 56, p. 375—389.
- Nur U. Endomitosis in the mealy bug *Planococcus citri* (Homoptera: Coccoidea). — Chromosoma, 1968, vol. 24, p. 202—209.
- Nuti Ronchi V., Bennici A., Martini G. Nuclear fragmentation in dedifferentiating cells of *Nicotiana glauca* with grown in vitro. — Cell Differ., 1973, vol. 2, p. 77—85.
- Ohno S. Symposium on sex chromatin. — Acta cyt., 1962, vol. 6, p. 66.
- Ohno S., Hauschka T. S. Allocycle of X-chromosome in tumour and normal tissue. — Cancer Res., 1960, vol. 20, p. 541—545.
- Ohno S., Weller C. Sex chromosome behaviour pattern in germ and somatic cells of *Mesocricetus auratus*. — Chromosoma, 1961, vol. 12, p. 362—373.
- Ohno S., Kaplan W. D., Kinosita R. A photographic representation of mitosis and meiosis in the male of *Rattus norvegicus*. — Cytologia, 1958, vol. 23, p. 422—428.
- Ohno S., Kaplan W. D., Kinosita R. Formation of sex chromatin by a single X-chromosome in liver cells of *Rattus norvegicus*. — Exp. Cell Res., 1959, vol. 18, p. 415—418.
- Ohno S., Kaplan W. D., Kinosita R. On isopictic behaviour of XX-bivalent in oocytes of *Rattus norvegicus*. — Exp. Cell Res., 1960, vol. 19, p. 637—639.
- Ohno S., Makino S., Kaplan W. D., Kinosita R. Female germ cells of man. — Exp. Cell Res., 1961, vol. 24, p. 106—110.
- Ohno S., Klinger H. P., Atkin W. B. Human oogenesis. — Cytogenetics, 1962, vol. 1, p. 42—51.
- Ohno S., Jainchill J., Stenius C. The creeping vole (*Microtus oregoni*) as a gonosomic mosaics. 1. The OY/XY constitution of the male. — Cytogenetics, 1963, vol. 2, p. 222—239.
- Ohno S. W., Becak W., Becak M. L. X-autosome ratio and behaviour pattern of individual

- X-chromosomes in placental mammals. — *Chromosoma*, 1964, vol. 15, p. 14—30.
- Ollerich D., Carlson E. Ultrastructure of intranuclear annulate lamellae in giant cells of rat placenta. — *J. Ultrastruct. Res.*, 1970, vol. 30, p. 411—422.
- Orsini M. The trophoblastic giant cells and endovascular cells associated with pregnancy in the hamster, *Cricetus auratus*. — *Amer. J. Anat.*, 1954, vol. 94, p. 273—321.
- Owers N. O. Comparison of the proteolytic activity of the implanting rat and guinea-pig blastocyst. — *Anat. Rec.*, 1970, vol. 166, p. 358.
- Owers N. O., Blandau R. Enzymatic activities of implanting guinea pig embryos. — *Anat. Rec.*, 1968, vol. 160, p. 404.
- Padykula H. A., Richardson D. A correlated histochemical and biochemical study of glycogen storage in the rat placenta. — *Amer. J. Anat.*, 1963, vol. 112, p. 215—227.
- Painter T. S. A new method for the study of chromosome rearrangement and the plotting of chromosome maps. — *Science*, 1933, vol. 78, p. 585—586.
- Painter T. S., Bieseke J. J. Endomitosis and polyribosome formation. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1966, vol. 56, p. 1920—1925.
- Painter T. S., Reindorp E. C. Endomitosis in the nurse cells of the ovary of *Drosophila melanogaster*. — *Chromosoma*, 1939, vol. 1, p. 267—283.
- Papaioannou V. G., West J. D., Bucher T., Linke I. M. Non-random X-chromosome expression early in mouse development. — *Develop. Genet.*, 1981, vol. 2, p. 305—315.
- Park W. W. The occurrence of sex chromatin in early human and macaque embryos. — *J. Anat.*, 1957, vol. 91, p. 369—373.
- Parkes A. S. The function of the corpus luteum. 2. The experimental production of placentaloma in the mouse. — *Proc. Roy. Soc. London B.*, 1929, vol. 104, p. 183—188.
- Pavan C., Brito-da-Cunha A. B. Chromosome activities in normal and in infected cells of Sciaridae. — In: *Seminar on chromosomes: Nucleus suppl.* Calcutta, 1968, p. 183—194.
- Pearson M. J. The abdominal epidermis of *Calliphora erythrocephala* (Diptera). I. Polyteny and growth in the larval cells. — *J. Cell Sci.*, 1974a, vol. 16, p. 113—131.
- Pearson M. J. Polyteny and the functional significance of the polytene cell cycle. — *J. Cell Sci.*, 1974b, vol. 15, p. 457—479.
- Pehlmann F. W. Die amitotische Zellteilung. Eine elektronenmikroskopische Untersuchung an Interrenalzellen von *Rana temporaria*. — *Ztschr. Zellforsch. mikrosk. Anat.*, 1968, Bd 84, S. 516—548.
- Pera F., Wolf U. DNS-Replikation und Morphologie der X-chromosomen während der Syntheseperiode bei *Microtus agrestis*. — *Chromosoma*, 1967, vol. 22, p. 378—379.
- Petit B. I., Rasch R. W., Rasch E. M. DNA-synthesis in giant salivary chromosomes of *Drosophila virilis* prior to pupation. — *J. Cell Physiol.*, 1967, vol. 69, p. 273—279.
- Pfitzer P. Nuclear DNA content of human myocardial cells. — *Curr. Top. Pathol.*, 1971, vol. 125, p. 168.
- Pfitzer P., Capuso A. Der DNS-Gehalt der Zellkerne im Herzhorn der Menschen. — *Virchows Arch. B.*, 1970, vol. 5, p. 254—267.
- Plotnick F., Klinger H. P., Kosseff A. L. Sex chromatin in pre-implantation rabbit embryos. — *Cytogenetics*, 1971, vol. 10, p. 244—253.
- Porter D. G. Observations of the development of mouse blastocysts transferred to the testis and kidney. — *Amer. J. Anat.*, 1967, vol. 121, p. 73—86.
- Potts D. M. The attachment phase of oöimplantation. — *Amer. J. Obstet. Gynecol.*, 1966, vol. 96, p. 1122—1128.
- Potts D. M. The ultrastructure of implantation in the mouse. — *J. Anat.*, 1968, vol. 103, p. 77—90.
- Potts D. M. The ultrastructure of egg implantation. — *Adv. Reprod. Physiol.*, 1969, vol. 4, p. 241—267.
- Rasch E. M. DNA cytophotometry of salivary gland nuclei and other tissue systems in dipteran larvae. — In: *Introduction to quantitative cytochemistry*. New York, 1970, vol. 2, p. 357—391.
- Recher L., Parry N., Whitescarver I., Briggs L. Lead-positive nuclear structures and their behaviour under the effect of various drugs. — *J. Ultrastruct. Res.*, 1972, vol. 38, p. 398—410.
- Reinius S. Ultrastructure of blastocysts attachment in the mouse. — *Ztschr. Zellforsch. mikrosk. Anat.*, 1967, Bd 77, S. 257—266.
- Reitalu J. Observation on the sex chromatin in the rat. — *Hereditas*, 1958, vol. 44, p. 488—494.
- Risler H. Polyploidie und somatische Reduktion in der Larvenepidermis von *Aedes aegypti* L. (Culicidae). — *Chromosoma*, 1959, vol. 10, p. 184—209.
- Roberts B., Whittier J. M., Gilbert L. I. DNA synthesis pattern in the giant foot-pad nuclei of *Sarcophaga bullata* (Sarcophagidae, Diptera). — *Chromosoma*, 1974, vol. 47, p. 193—201.
- Rubinstein I. H., Owen R. G. Thymidine and uridine incorporation in relation to the ontogeny of root-knot syncytia. — *Contribs Boyce Thompson Inst.*, 1964, vol. 22, p. 491—502.
- Rudkin G. T. Replication of polytene chromosomes. — In: *Development studies on giant chromosomes*. Berlin etc., 1972, p. 58—85.
- Runner M. N. Development of mouse eggs in the anterior chamber of the eye. — *Anat. Rec.*, 1947, vol. 98, p. 1—18.
- Saccaman F. M., Morgan C. F., Wells L. J. Radioautographic studies of DNA synthesis in the developing extraembryonic membranes of the mouse. — *Anat. Rec.*, 1967, vol. 158, p. 197—206.
- Sachs L., Shelesnyak M. The development of polyploidy in the developing and suppressed deciduoma in the rat. — *J. Endocrinol.*, 1955, vol. 12, p. 146—151.
- Salomon D. S., Sherman M. I. The biogenesis of progesterone by cultured mouse midgestation trophoblast cells. — *Develop. Biol.*, 1975, vol. 47, p. 394—406.
- Sarto G. E., Stubbfield P. A., Therman E. Endomitosis in human trophoblast. — *Hum. Genet.*, 1982, vol. 62, N 3, p. 228—232.
- Sasaki M., Makino M. The meiotic chromosomes of man. — *Chromosoma*, 1965, vol. 16, p. 637—651.
- Schalgi R., Sherman M. Scanning electron microscopy of the surface of normal and implanted delayed mouse blastocysts during development in vitro. — *J. Exp. Zool.*, 1979, vol. 210, p. 69—80.
- Schlapke S., Enders A. C. Cellular basis of in-

- teraction between trophoblast and uterus at implantation. — *Biol. Reprod.*, 1975, vol. 12, p. 41—65.
- Schwarzacher H. G., Schnedl W. Endoreduplication in human fibroblast cultures. — *Cytogenetics*, 1966, vol. 4, p. 1—18.
- Selye H., McKeown J. Studies on the physiology of the metrial placenta in the rat. — *Proc. Roy. Soc.*, 1935, vol. B119, p. 1—31.
- Shapiro L. J., Mohandes L., Weiss R., Romeo G. Non-inactivation of an X-chromosome locus in man. — *Science*, 1979, vol. 204, p. 1225—1226.
- Shelesnyak M. Histamine and nidation of the ovum. — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1959, vol. 110, p. 713—723.
- Shelesnyak M. Decidualization: the decidua and the deciduoma. — *Perspect. Biol. Med.*, 1962, vol. 5, p. 503—518.
- Shelesnyak M., Mapcus G., Kraicer P., Lobel B. Experimental study of decidualization. — In: *Proc. V World Congr. fertility and sterility*. Stockholm, 1966, p. 363—368.
- Shelesnyak M., Tic L. Studies on the mechanism of decidualization. 4. Synthetic processes in the decidualizing uterus. — *Acta endocrinol.*, 1963, vol. 42, p. 465—472.
- Sherman M. I., McLaren A., Walker P. M. B. Mechanism of accumulation of DNA in giant cells of mouse trophoblast. — *Nature. New Biol.*, 1972, vol. 238, p. 175—176.
- Shimizu J. Sex chromatin in *Rumex acetosa*. — *La Kromosomo*, 1961, vol. 49, p. 1521—1523.
- Smetana K. The ultrastructural morphology and formation of nucleolar ribonucleoprotein structures. — *Acta Fac. med. Univ. brn.*, 1974, vol. 49, p. 155—179.
- Smetana K., Busch H. The nucleolus and nucleolar DNA. — In: *The cell nucleus*. New York; London, 1974, p. 73—147.
- Smetana K., Gyorkey F., Gyorkey P., Busch H. Compact filamentous bodies of nuclei and nucleoli of human prostrate gland. — *Exp. Cell Res.*, 1971, vol. 64, p. 133—139.
- Smith A. F., Wilson I. B. Cell interaction at the maternal-embryonic interface during implantation in the mouse. — *Cell Tissue Res.*, 1974, vol. 152, p. 525—542.
- Snell G. D. The early embryology of the mouse. Philadelphia, 1941. 497 p.
- Snow M. H., Ansell J. D. The chromosomes of giant trophoblast cells of the mouse. — *Proc. Roy. Soc.*, 1974, vol. B187, p. 93—98.
- Sorsa M. Ultrastructure of chromocentre heterochromatin in *Drosophila melanogaster*. — *Ann. Acad. sci. fenn.*, 1969, vol. 146, p. 1—20.
- Sorsa V. Whole mount electron microscopy of core fibrils in salivary gland chromosomes of *Drosophila melanogaster*. — *Hereditas*, 1972, vol. 72, p. 169—172.
- Soyer M. O. L'enveloppe nucléaire chez *Noctiluca miliaris* Suriray (Dinoflagellata). 1. Quelques données sur son ultrastructure et son évolution au cours de la sporogénèse. — *J. Microsc. (France)*, 1969a, vol. 8, p. 569—580.
- Soyer M. O. L'enveloppe nucléaire chez *Noctiluca miliaris* Suriray (Dinoflagellata). 2. Rôle des ampoules nucléaires et de certains constituants cytoplasmiques dans la mécanisme mitotique. — *J. Microsc. (France)*, 1968b, vol. 8, p. 709—720.
- Soyer M. O. Les ultrastructures nucléaires de la *Noctiluque* (Dinoflagelle libre) au cours de la sporogénèse. — *Chromosoma*, 1972, vol. 39, p. 419—441.
- Spee F. Die Implantation des Meerschweinchenies in die Uteruswand. — *Ztschr. Morphol. Anthropol.*, 1901, Bd 3, 130—182.
- Spindle A. I., Pedersen R. A. Hatching, attachment and outgrowth of mouse blastocyst in vitro. Fixed nitrogen requirement. — *J. Exp. Zool.*, 1973, vol. 186, p. 305—318.
- Spindler M., Hemleben Ch. Formation and possible function of annulate lamellae in planktic foraminifer. — *J. Ultrastruct. Res.*, 1982, vol. 81, p. 341—350.
- Stahl A., Mirre C., Hartung M., Kuibichler B., Navarro A. Localisation and structure of nucleolar organizers in the oocyte during meiotic prophase I. — *Ann. biol. anim., biochim., biophys.*, 1978, vol. 18, p. 399—408.
- Steele M. W. Incomplete dosage compensation for glucose-6-phosphate dehydrogenase in human embryos and newborns. — *Nature*, 1970, vol. 227, p. 496—498.
- Steer H. W. Implantation of the rabbit blastocyst: the adhesive phase of implantation. — *J. Anat.*, 1971, vol. 109, p. 215—227.
- Suomalainen E. On the sex chromosome trivalent in some Lepidoptera females. — *Chromosoma*, 1969, vol. 28, p. 298—308.
- Swift H. The fine structure of annulate lamellae. — *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 1956, suppl., vol. 2, p. 415—418.
- Tachi S., Tachi C. Ultrastructural studies on maternal-embryonic cell interaction during experimentally induced implantation of rat blastocysts to the endometrium of the mouse. — *Develop. Biol.*, 1979, vol. 68, p. 203—223.
- Tachi S., Tachi C., Landnes H. R. Ultrastructural feature of blastocyst attachment and trophoblastics invasion in the rat. — *J. Reprod. Fert.*, 1970, vol. 21, p. 37—56.
- Takagi N., Oshimura M. Fluorescence and Giemsa banding studies of the allocyclic X-chromosome in embryonic and adult mouse cells. — *Exp. Cell Res.*, 1973, vol. 78, p. 127—135.
- Takagi N., Sasaki M. Preferential inactivation of the paternally derived X-chromosome in the extraembryonic membranes of the mouse. — *Nature*, 1975, vol. 250, p. 640—642.
- Takagi N., Sugawara O., Sasaki M. Regional and temporal changes in pattern of X-chromosome replication during the early post implantation development of the female mouse. — *Chromosoma*, 1982, vol. 85, p. 275—286.
- Terzakis I. A. The nucleolar channel system of human endometrium. — *J. Cell Biol.*, 1965, vol. 27, p. 293—304.
- Therkelsen A. J., Petersen G. B. Frequency of sex-chromatin-positive cells in the logarithmic and postlogarithmic growth phases of human cells in tissue culture. — *Exp. Cell Res.*, 1962, vol. 28, p. 588—590.
- Therkelsen A. J., Lamm L. U. Difference in the frequency of sex chromatin positive cells in DNA-synthesizing and non-synthesizing human cells in tissue culture. — *Exp. Cell Res.*, 1967, vol. 41, p. 215—217.
- Therman E., Sarto G. E., Buchler D. A. The structure and origin of giant nuclei in human cancer cells. — *Cancer Genet. Cytogen.*, 1983, vol. 9, p. 9—18.
- Tilz W. Vergleichende Untersuchungen über den Grad der somatischen Polyploidie an nahe

- verwandten diploiden und polyploiden Sippen einschliesslich der Cytologie von Antipoden. — Österr. Bot. Ztschr., 1965, Bd 112, S. 101—172.
- Traut W., Mosbacher G. C. Geschlechtsschromatin bei Lepidopteren. — Chromosoma, 1968, vol. 25, p. 343—356.
- Traut W., Rathjens B. Das W-chromosom von *Ephesia kuchiella* (Lepidoptera) und die Ableitung des geschlechtsschmatine. — Chromosoma, 1973, vol. 41, p. 437—446.
- Tschermak-Woess E. Karyologische Pflanzenanomalie. — Protoplasma, 1956, vol. 46, p. 798—834.
- Tschermak-Woess E. Über der regelmäßige Auftreten von «Riesenchromosomen» in *Chalazahaustorium* von *Rhinanthus*. — Chromosoma, 1957, vol. 8, p. 523—544.
- Tschermak-Woess E. Strukturtypen der Ruhekern von Pflanzen und Tieren. — Protoplasmatologia, 1963, vol. 5, p. 157.
- Tschermak-Woess E. Endomitose. — In: Der Zellkern. Berlin etc., 1971, S. 569—625.
- Tschermak-Woess E. Somatische Poliploidie bei Pflanzen. — In: Grundlagen der Cytologie. Stuttgart, 1973, S. 189—204.
- Tschermak-Woess E., Hasitschka G. Veränderungen der Kernstruktur während der Endomitose, rhythmisches Kernwachstum und verschiedenes Heterochromatin bei Angiosperm. — Chromosoma, 1953, vol. 5, p. 574—614.
- Tschermak-Woess E., Hasitschka-Jenschke G. Das Verhalten von B-Chromosomen besonderer Ausbildung in den endopolyploiden Riesenkernen des chalasalen Endospermaustoriums von *Rhinanthus*. — Österr. Bot. Ztschr., 1963, Bd 110, S. 468—480.
- (Vagner R., Mitchell G.) Вагнер Р., Митчелл Г. Генетика и обмен веществ. М., 1958. 426 с.
- Vande Berg J. L., Cooper D. W., Sherman G. B. Phosphoglycerate kinase A polymorphism in the wallaby *Macropus parryi*: activity of both X-chromosomes in muscle. — Nature New Biol., 1973, vol. 243, p. 47—48.
- Velardo I. T., Dawson A. B., Olsen A. G., Hisaw F. L. Sequence of histochemical changes in the uterus and vagina of the rat during the prolongation of pseudopregnancy associated with the presence of deciduomata. — Amer. J. Anat., 1953, vol. 93, p. 273—305.
- Vendrelly R., Vendrelly C. The results of cytophotometry in the study of the DNA content of the nucleus. — Intern. Rev. Cytol., 1956, vol. 5, p. 171—194.
- Wake N., Takagi N., Sasaki M. Non random inactivation of X-chromosome in the rat yolk sac. — Nature, 1976, vol. 262, p. 580—581.
- Ward M. The early development and implantation of the golden hamster, *Cricetus auratus*, and the associated endometrial changes. — J. Anat., 1948, vol. 59, p. 27—40.
- West J. D., Chapman V. M. Variation for X-chromosome expression in mice detected by electrophoresis of phosphoglycerate kinase. — Genet. Res., 1978, vol. 32, p. 91—102.
- West J. D., Frels W. L., Chapman W. M., Papaioannou V. E. Preferential expression of the maternally derived X-chromosome in the mouse yolk sac. — Cell, 1977, vol. 12, p. 873—882.
- Weste S. M., Penington D. G. Fluorometric measurement of DNA in bone marrow cells. The measurement of megakaryocyte DNA. — J. Histochem. Cytochem., 1972, vol. 20, p. 627—633.
- White M. J. D. The salivary gland chromosomes of several species. — J. Morphol., 1948, vol. 82, p. 53—80.
- Wigglesworth V. B. Polyploidy and nuclear fusion in the fat body of *Rhodnius* (Hemiptera). — J. Cell Biol., 1967, vol. 2, p. 603—616.
- Wilson J., Leduc N. The occurrence and formation of binucleate and multinucleate cells and polyploid nuclei in mouse liver. — Amer. J. Anat., 1948, vol. 82, p. 353—385.
- Wilson J. B., Smith M. S. R. Primary trophoblast invasion at the time of implantation. — In: Oviposition, human gonadotropins and prolactin. Basel, 1970, p. 1—8.
- Wimsatt W. A., Wislocki G. B. The placenta of the american shrews, *Blarina brevicauda* and *Sorex fumeus*. — Amer. J. Anat., 1947, vol. 80, p. 361—436.
- Wislocki G. B., Bennet H. S. The histology and cytology of the human and monkey placenta with special reference to the trophoblast. — Amer. J. Anat., 1943, vol. 73, p. 335—419.
- Wislocki G., Wimsatt W. Chemical cytology of the placenta of the two north american shrews. — Amer. J. Anat., 1947, vol. 81, p. 269—276.
- Wisniewski H., Shelanski M. L., Terry R. D. Effects of mitotic spindle inhibitors of neurotubules and nucleofilaments in anterior horn cells. — J. Cell Biol., 1968, vol. 38, p. 224—229.
- Yamamoto H. Heat-shock induced puffing changes in Balbiani rings. — Chromosoma, 1970, vol. 32, p. 171—190.
- Young M. P., Whicher J. T., Potts D. M. The ultrastructure of implantation in the golden hamster (*Cricetus auratus*). — J. Embryol. Morphol., 1968, vol. 19, p. 341—345.
- Zagrodzinska B. Intranucleolar lamellar structures in Cecidomyiidae (Diptera). — Folia histochem. cytochem., 1975, vol. 13, p. 97.
- Zuk J. Analysis of Y-chromosome heterochromatin in *Rumex thyrsiflorus*. — Chromosoma, 1969, vol. 27, p. 338.

МИКРОФОТОГРАФИИ

(табл. I—XXXVI)

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

Для светооптических микрофотографий
(табл. I—XVIII)

вк — вторичные гигантские клетки трофобласта
г — гранулы
дк — децидуальные клетки
з — зародыш
лак — кровеносная лакуна
нк — первичные гигантские клетки трофобласта
нх — половой хроматин
тк — третичные гигантские клетки трофобласта
х — хромосома
хп — хромонемы
хр — хроматин
ц — цитоплазма
я — ядро
яд — ядрышко
яо — ядерная оболочка
яф — ядерный фрагмент

Для электронных микрофотографий
(табл. XIX—XXXVI)

аГ — аппарат Гольджи
аэс — агранулярная эндоплазматическая сеть

внп — внутриядерные пористые пластинки
гэс — гранулярная эндоплазматическая сеть
дс — десмосомоподобные структуры
к — крупные скопления хроматина
л — лакуна
м — митохондрии
п — поры
пг — перихроматиновые гранулы
пк — поровые комплексы
ип — пористые пластинки
т — трубочки
ф — фибриллярный компонент
фг — фиброгранулярный компонент
фц — фибриллярный центр
х — хромосома
хг — хроматиновая глыбка
хр — хроматин
ц — цитоплазма
я — ядро
яд — ядрышко
яо — ядерная оболочка
яф — ядерный фрагмент

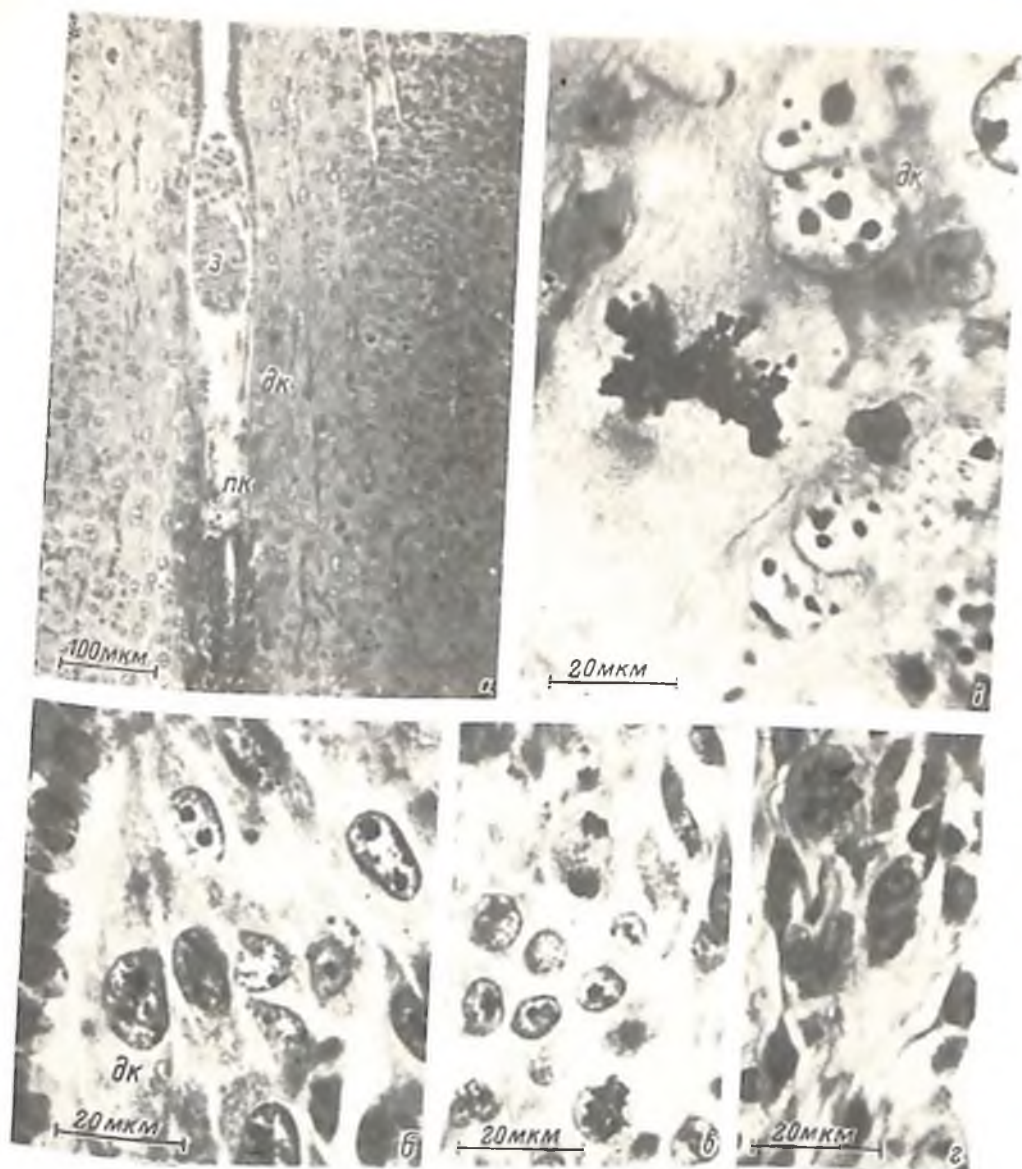


Табл. 1. Поперечный срез через рог матки беременной крысы на 7-е сутки; гипертрофия соединительнотканых клеток эндометрия и превращение их в децидуальные.

а — бластоциста лежит в имплантационной камере, клетки эндометрия имеют разное строение; б — пол амниотический, ближе к зародышу, располагается слой из плотно прилегающих друг к другу децидуальных клеток; в — далее идет зона клеток переходного типа от соединительнотканых к децидуальным, в этой зоне чаще всего встречаются митозы; г — периферическая зона эндометрия, здесь тоже видны митозы, д — полиплоидные клетки децидуомы, полиплоидный митоз. Окраска гематоксилином Бемера.

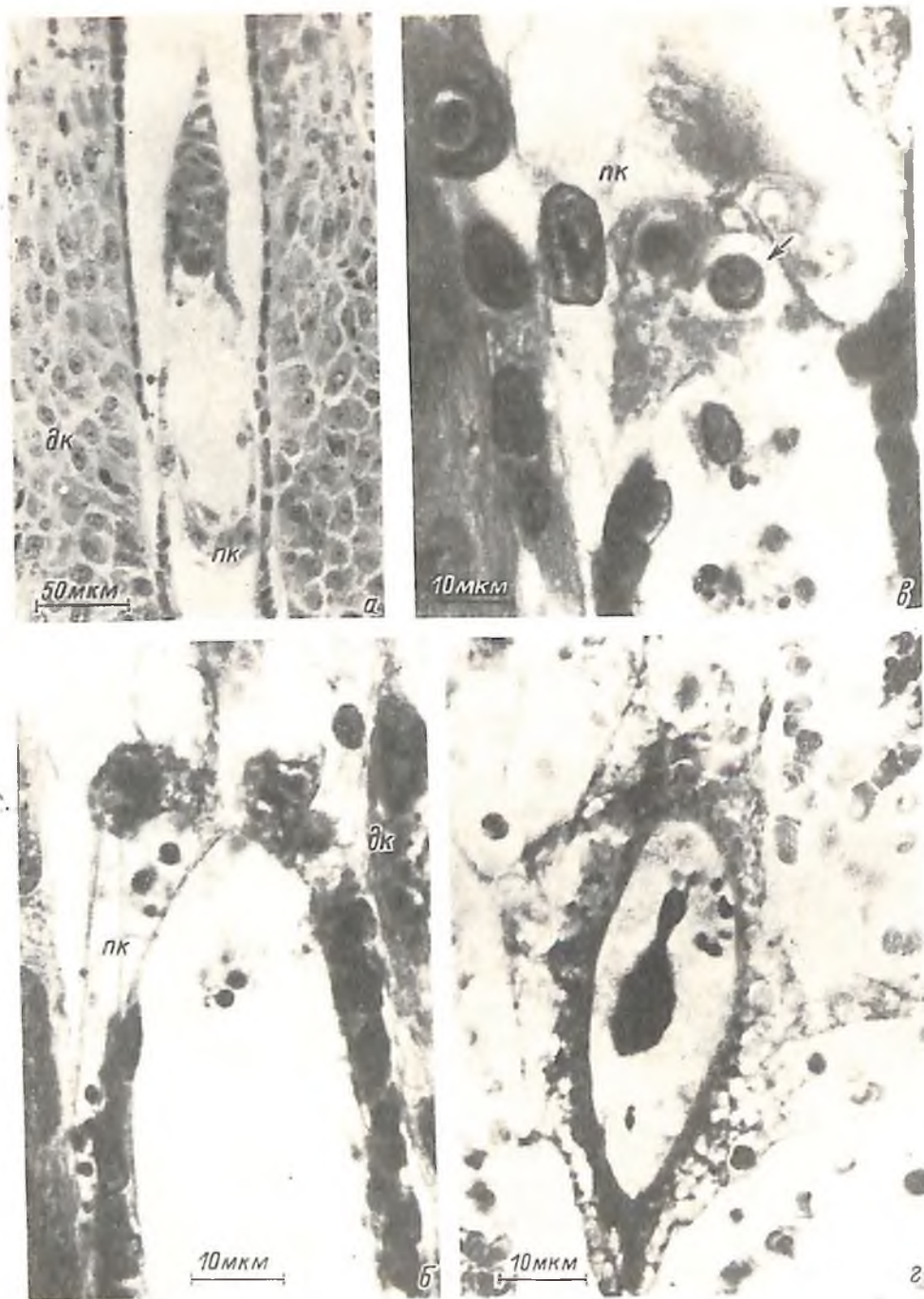


Табл. II. Фагоцитоз в первичных гигантских клетках трофобласта крысы.

а — трофобласт 6-суточного зародыша начинает лизировать эпителиальную обкладку имплантационной камеры; *б* — трофобласт 7-суточного зародыша прилегает непосредственно к децидуальным клеткам, первичные гигантские клетки мигрируют ко «дну» камеры, цитоплазматический язык первичной гигантской клетки проникает под эпителий и отслаивает его, в цитоплазме видны захваченные эпителиальные клетки и их остатки; *в* — ядро клетки трофобласта окружает пищеварительную вакуоль, содержащую фагоцитированную эпителиальную клетку с нуклеотическим ядром (стрелка); *г* — гигантская клетка фагоцитирует большое количество эритроцитов материнской крови. Окраска гематоксилином Бейера.

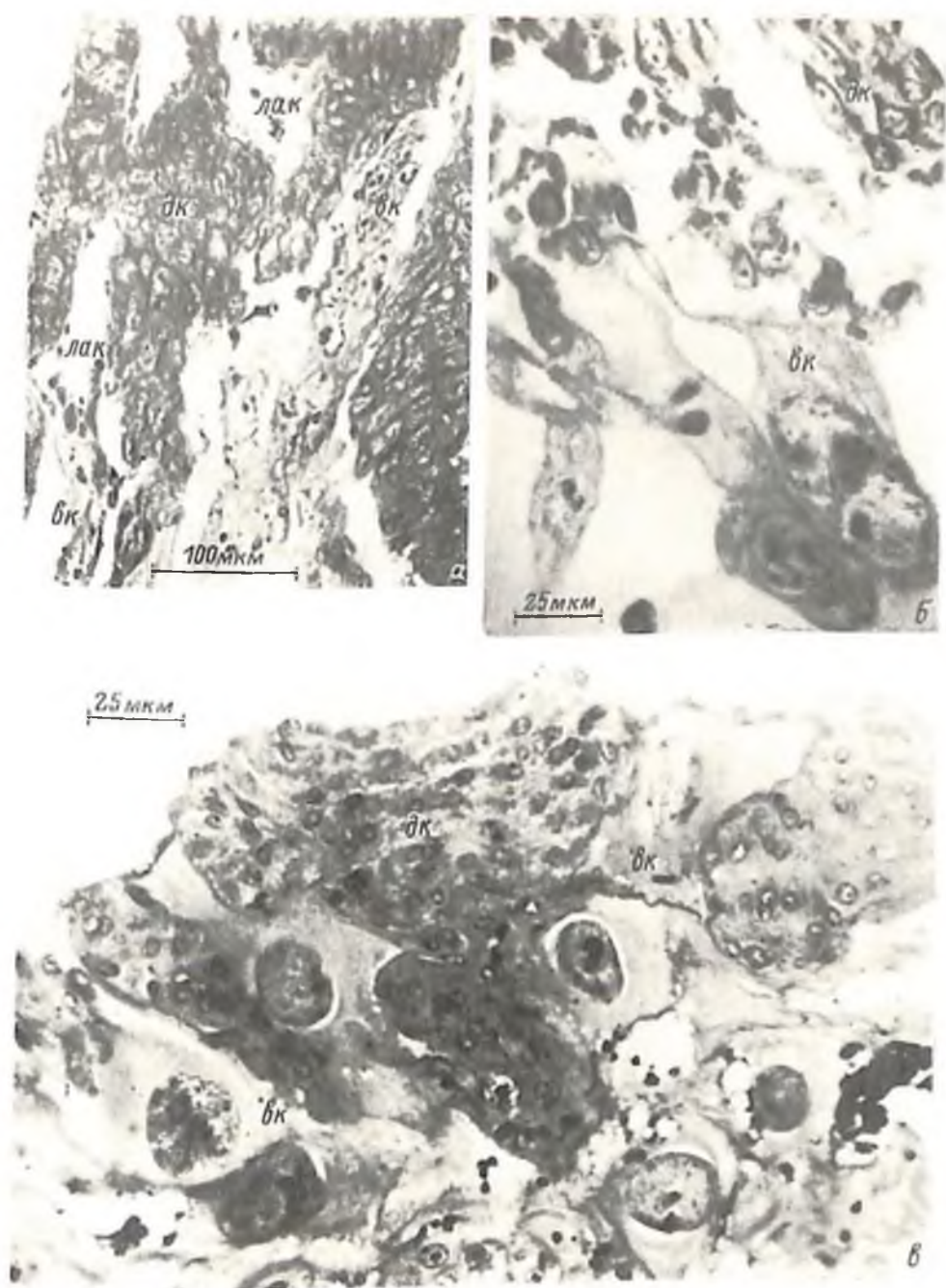


Табл. III. Фагоцитоз во вторичных гигантских клетках трофобласта крысы.
 а — вторичные гигантские клетки трофобласта переменяются в decidua basalis по кровеносным лакунам;
 б — клетки трофобласта выпускают длинные цитоплазматические отростки, которые обволакивают децидуальные клетки; в — «групповой фагоцитоз» — несколько соседних гигантских клеток трофобласта окружают скопление децидуальных клеток. Окраска: а, в — гематоксилином Вейера; б — азур-эозином—железным гематоксилином.

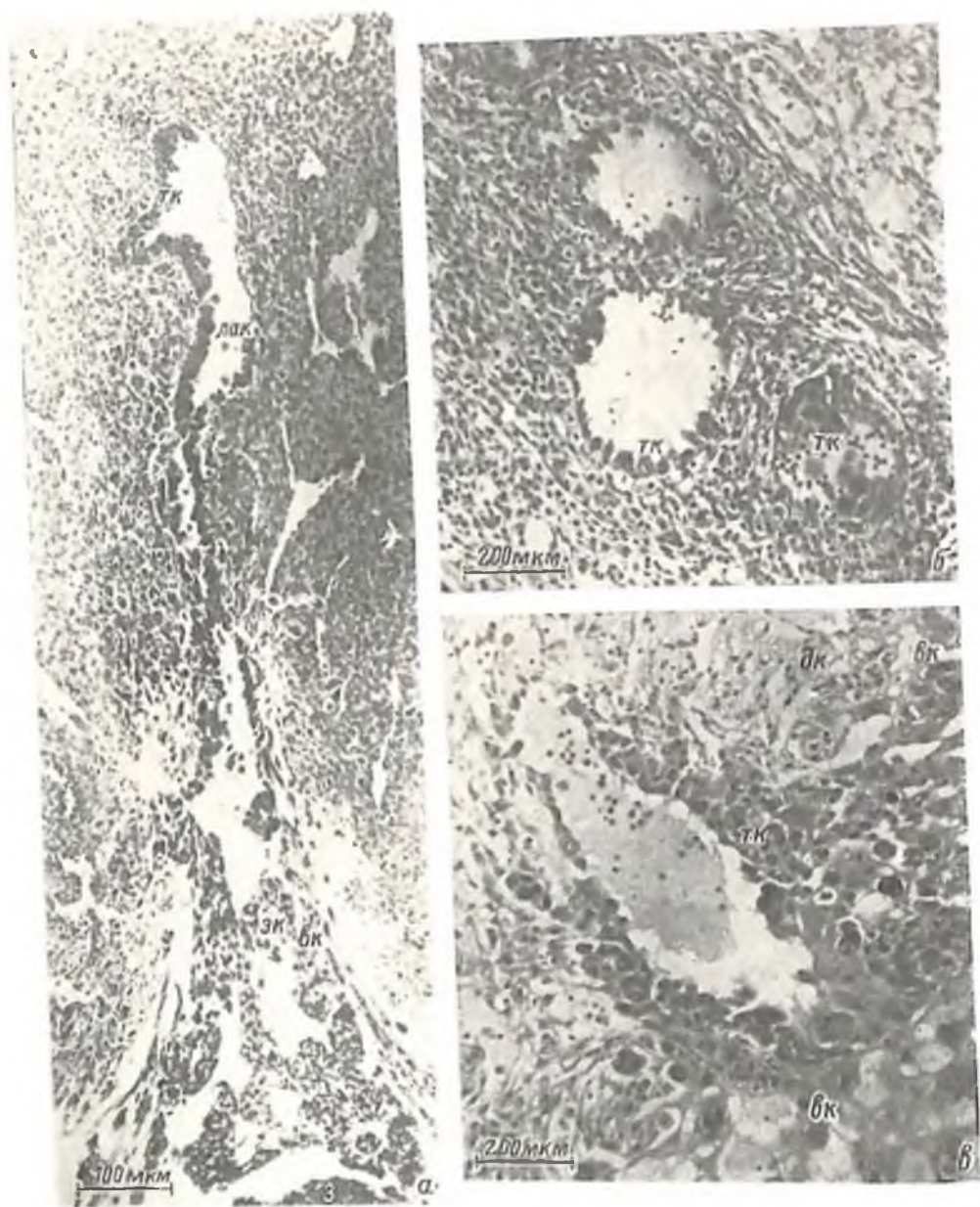


Табл. IV. Обособление и миграция третичных гигантских клеток трофобласта на 10-е (а) и 15-е сут (б, в) развития зародыша крысы.

а — третичные клетки трофобласта мигрируют по стенке центральной лакуны в глубину decidua basalis, клетки трофобласта в ходе обособления округляются, цитоплазма их становится более базофильной; б — клетки трофобласта достигают мышечного слоя; в — миграция третичных гигантских клеток еще продолжается. Окраска толудиновым синим.

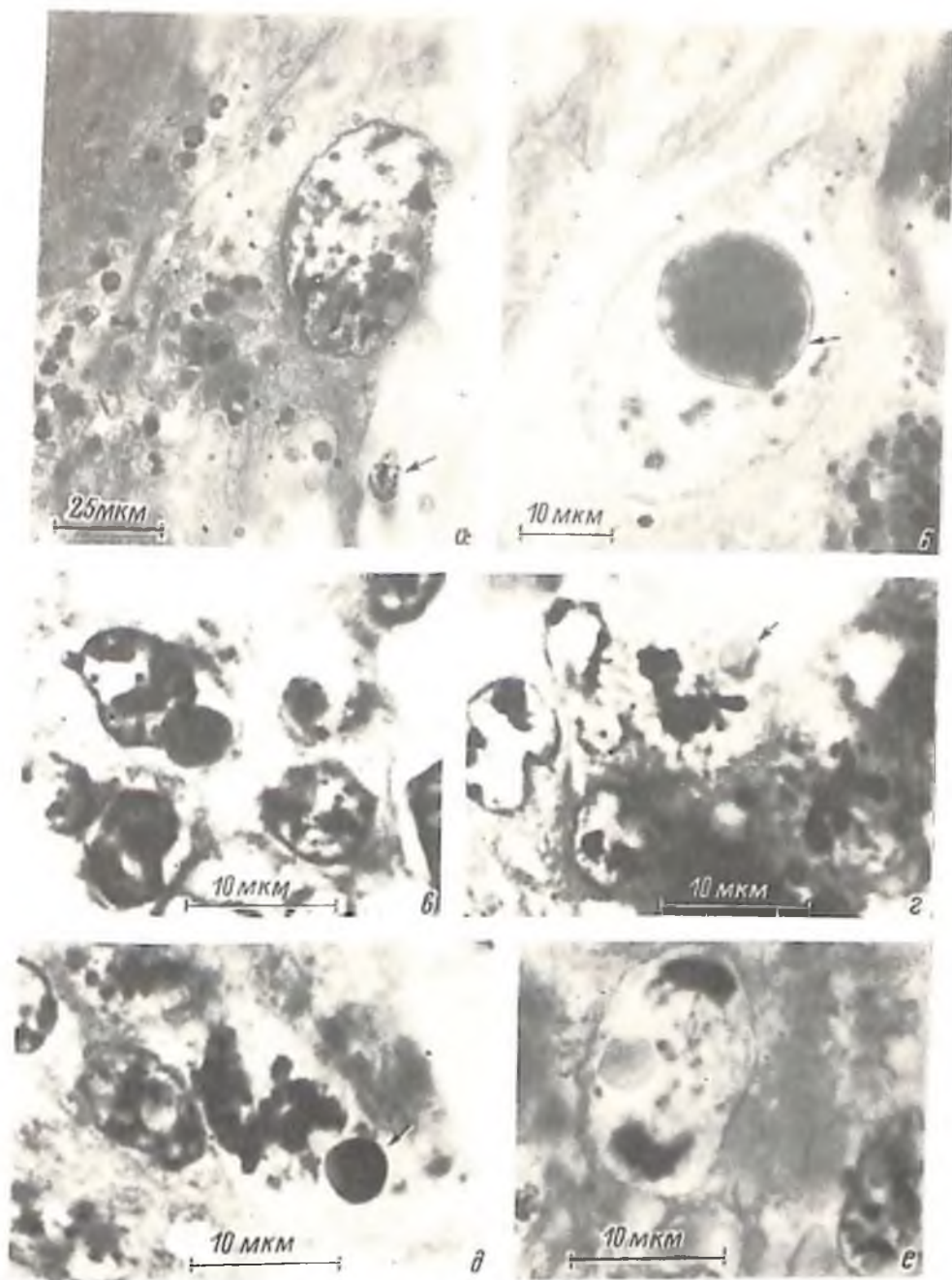


Табл. V. Фагоцитоз в первичных гигантских клетках трофобласта и в клетках соединительного отдела плаценты серой полочки.

а — в многочисленных вакуолях периферической зоны цитоплазмы гигантской клетки видны захваченные эритроциты и лейкоциты, слева — цитоплазматические языки обтекают с двух сторон децидуальную клетку (стрелка); б — огромная пищеварительная вакуоль (стрелка), содержащая множество эритроцитов, окружена ядром гигантской клетки; в — в клетках соединительной зоны плаценты захваченные эритроциты располагаются в пищеварительной вакуоли около интерфазного ядра; г, д — эритроциты (стрелка) в метафазной клетке; е — клетка на стадии анафазы содержит захваченный эритроцит. Окраска железным гематоксилином.

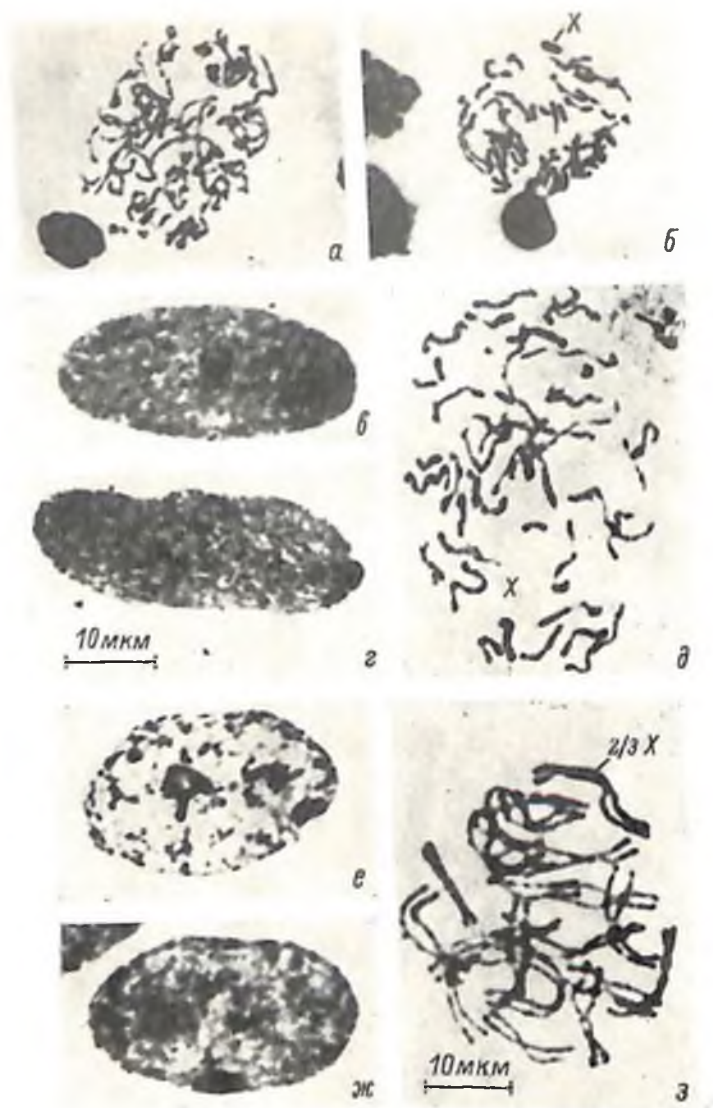


Табл. VI. Половой хроматин и гетеропикнотическая X-хромосома в интерфазных ядрах и в профазе клеток человека (а, б), кошки (в—г) и полевки *Microtus oregoni* (е—з) (а, б — по: Ohno et al., 1962; в—з — по: Ohno et al., 1964).

а — ядро оогония. X-хромосомы находятся в изопикнотическом состоянии; б — в фолликулярных клетках личинки выявляется гетеропикнотическая X-хромосома (X); в — интерфазное ядро клетки самца; г — ядро клетки самки; д — клетка самки в профазе, видна гетеропикнотическая X-хромосома (X); е — интерфазное ядро клетки самца; ж — ядро клетки самки; з — в профазе две трети длины X-хромосомы гетеропикнотичны ($\frac{2}{3}X$).

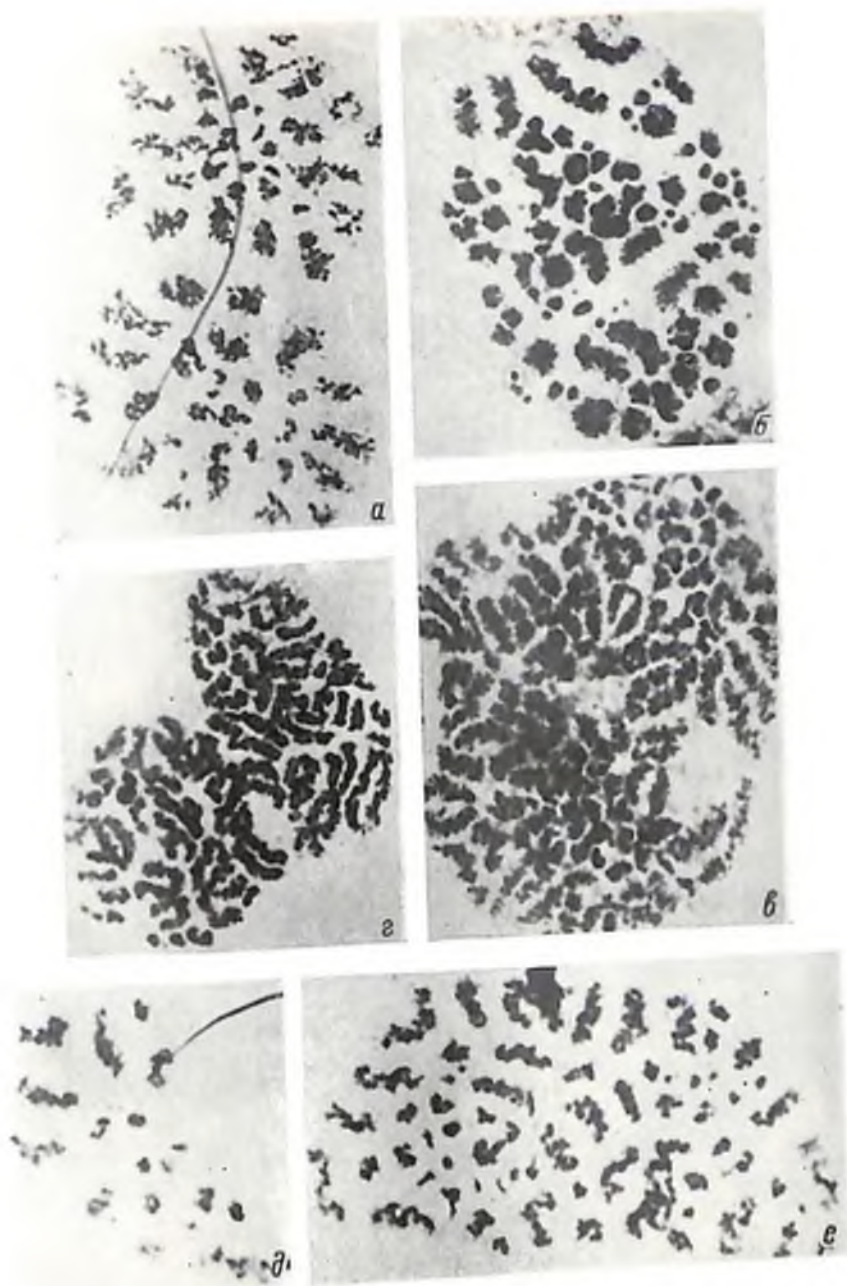


Табл. VII. Стадии эндомитоза в ядрах клеток стенки семенного фолликула саранчи (по: Кикиадзе, Истоминна, 1980).

a — эндпрофаза, б — эндометафаза, в — эндоанафаза, г — эндотелофаза, д — диплоидное ядро, е — окта-
пloidное ядро. Окраска по Фельгену.

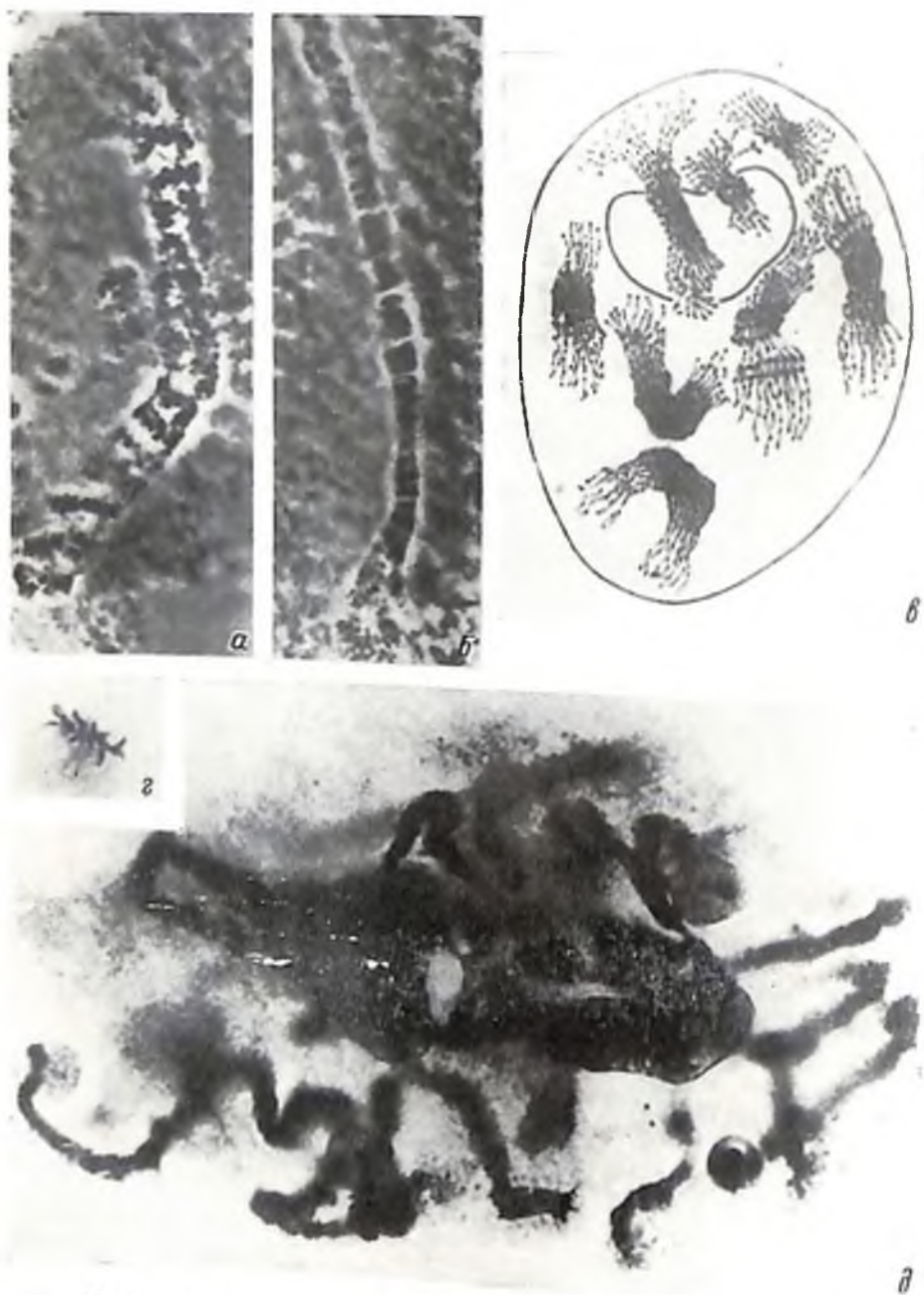


Табл. VIII. Политенные хромосомы растений (по: Tschermak-Woess, 1971).
 Клетки суспензора фасоли: а — при нормальной температуре, б — при пониженной; а — политенные хро-
 мосомы в клетках антипод *Dicentra spectabilis*; г — метафаза митоза клеток почечка; д — политенные хро-
 мосомы клеток халазального отдела почечка.



Табл. IX. Полиплодирующие митозы в клетках трофобласта соединительной зоны плаценты крысы на 14-е сут развития.

а, б — двуядерные клетки; а, г — постепенное объединение хромосомных наборов двуядерной клетки в ходе профазы; д — телофаза диплоидной клетки; е — телофаза полиплоидной клетки; ж, з — отсутствие цитокинеза в телофазе; и — хромосомные мосты в анафазе; к — аномальная трехгрупповая метафаза; л — анафаза полиплоидной клетки, видны четыре группы хромосом, наблюдается отстаивание хромосом. Окраска гематоксилином Бемера.

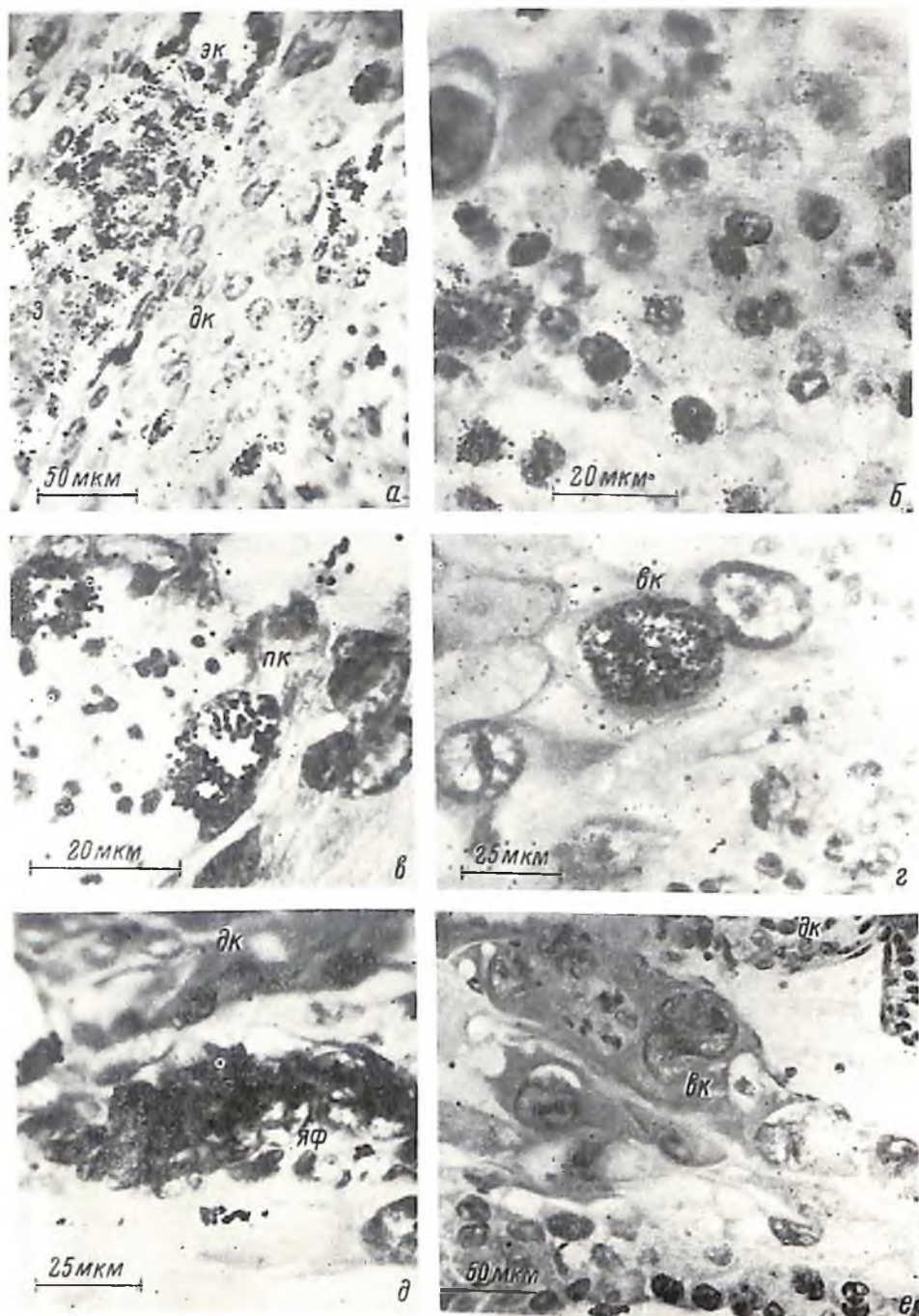


Табл. X. Включение ^3H -тимидина в клетки трофобласта и децидуальные клетки.

а, в — включение ^3H -тимидина в ядра клеток экстраплацентарного конуса зародыша, в ядра децидуальных клеток и клеток соединительной зоны эндометрия 7-суточного зародыша крысы; б — ядра клеток трофобласта соединительной зоны плаценты активно включают ^3H -тимидин (14-е сут); г — сетчатые ядра гигантских клеток трофобласта на 18-е сут не включают метку; д — ядерные фрагменты не включают метку (14-е сут); е — ядра

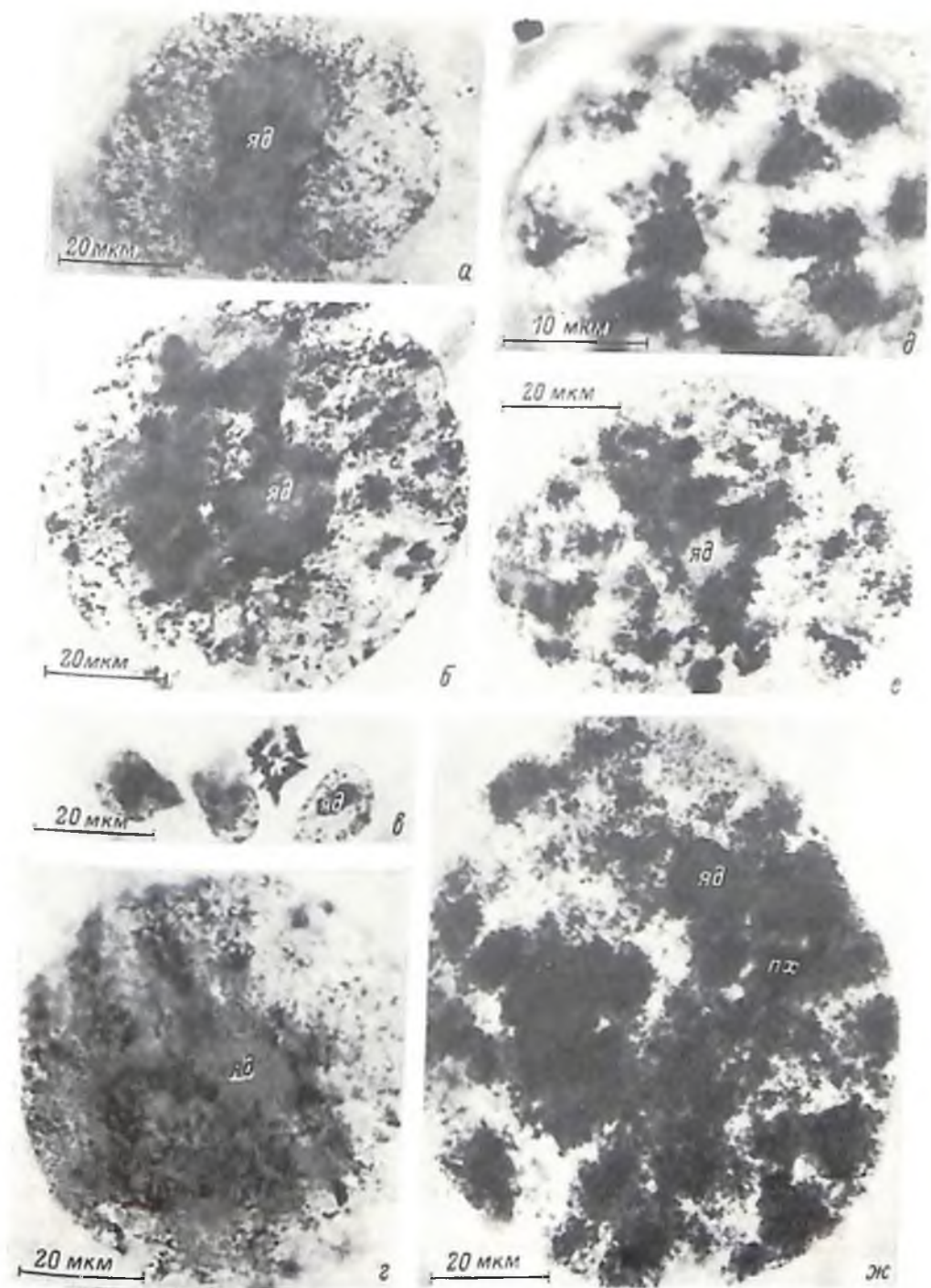


Табл. XI. Структура ядер гигантских клеток трофобласта крысы.

а — в кариоплазме видны тонкие двойные нити с парными хромомерами; б — конденсированные участки хромосом примыкают к ядрышку; в — метафаза митоза в клетках трофобласта соединительной зоны плаценты; г — рыхлые пучки хромосом видны под ядерной оболочкой и около ядрышка; д — пучки плотных хромосом на срезе; е, ж — плотные пучки конденсированных хромосом располагаются под ядерной оболочкой и около ядрышка, величина пучков соизмерима с тельцем полового хроматина, но степень их конденсации меньше. Окраска: а—г, е, ж — ацето-орсеином, д — железным гематоксилином.

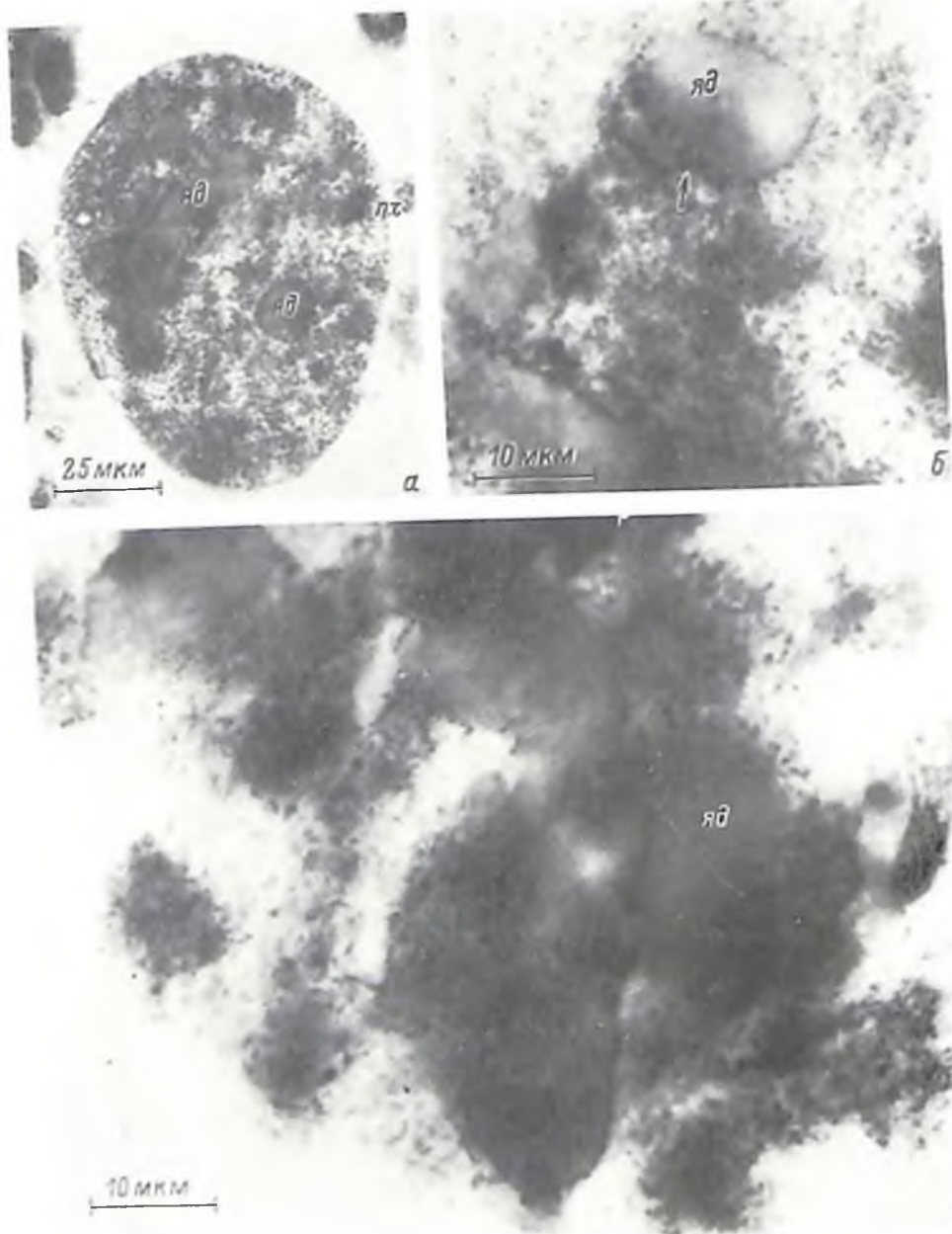


Табл. XII. Структура полицепных ядер во вторичных гигантских клетках трофобласта крысы.

а — сетчатое ядро, хроматин в значительной степени деконденсирован, лишь тельце полового хроматина остается в конденсированном состоянии; б — в ядрышкообразующей хромосоме видны крупный гетерохроматический блок, пуфф (стрелка) и внутриядрышковый хроматин; в — ядра содержат пучки хромосом, степень конденсации хромосом может быть различной, участки ядрышкообразующих хромосом часто более конденсированы по сравнению с другими хромосомами. Окраска ацето-орсеином.

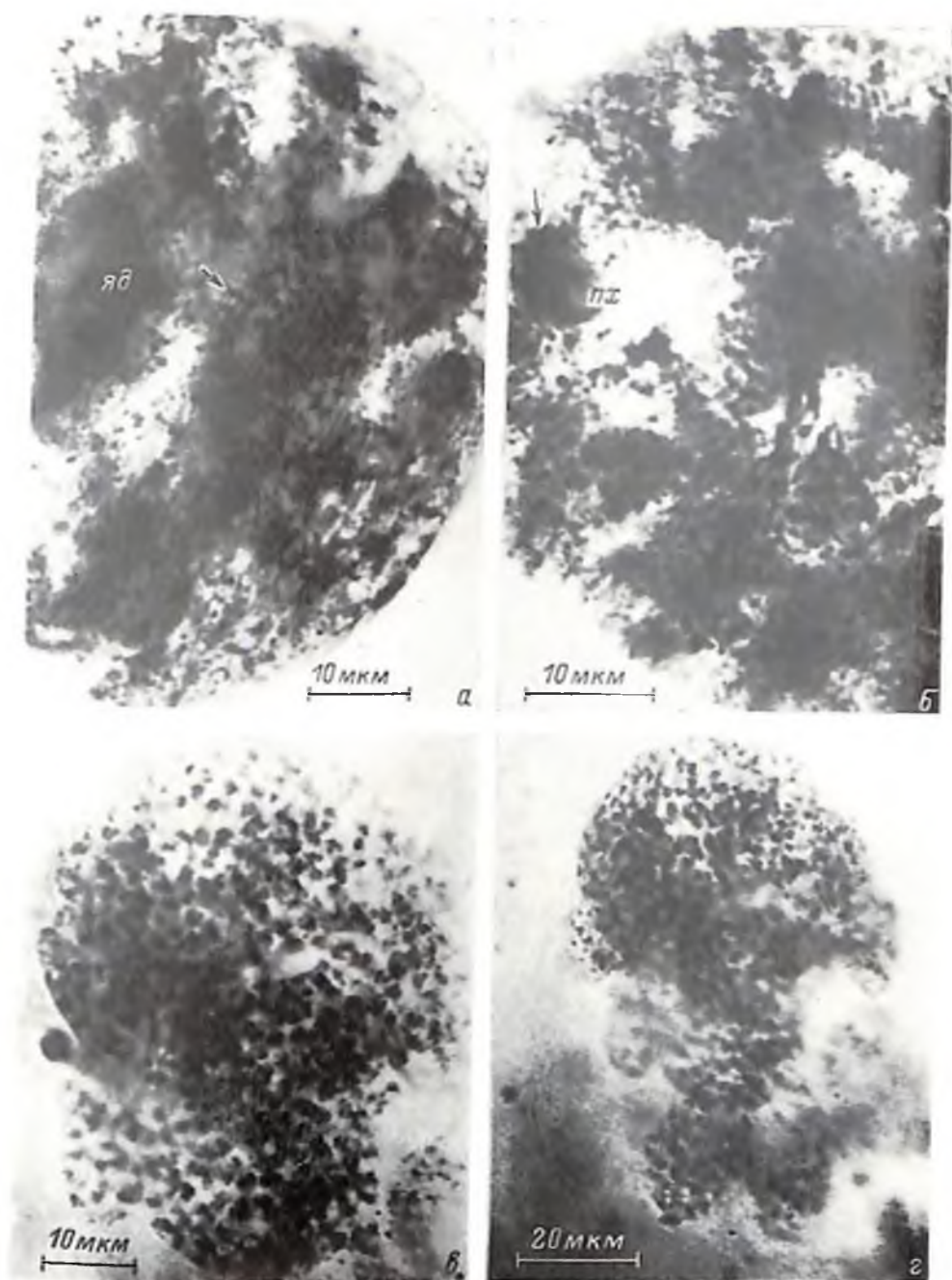


Табл. XIII. Структура полилетних (а, б) и полиплоидных (в, г) ядер в трофобласте кролика.

а — ядро с деконденсированным хроматином, в ядрышкообразующей хромосоме видны диски (стрелка);
б — политенные хромосомы имеют различную степень конденсации, наибольшая степень конденсации наблюдается в одной из X-хромосом, несколько меньшая — в ядрышкообразующей (стрелка), в—г — в начальном периоде фрагментации гигантского ядра в нем присутствуют эндохромосомы. Окраска ацето-орсеином.

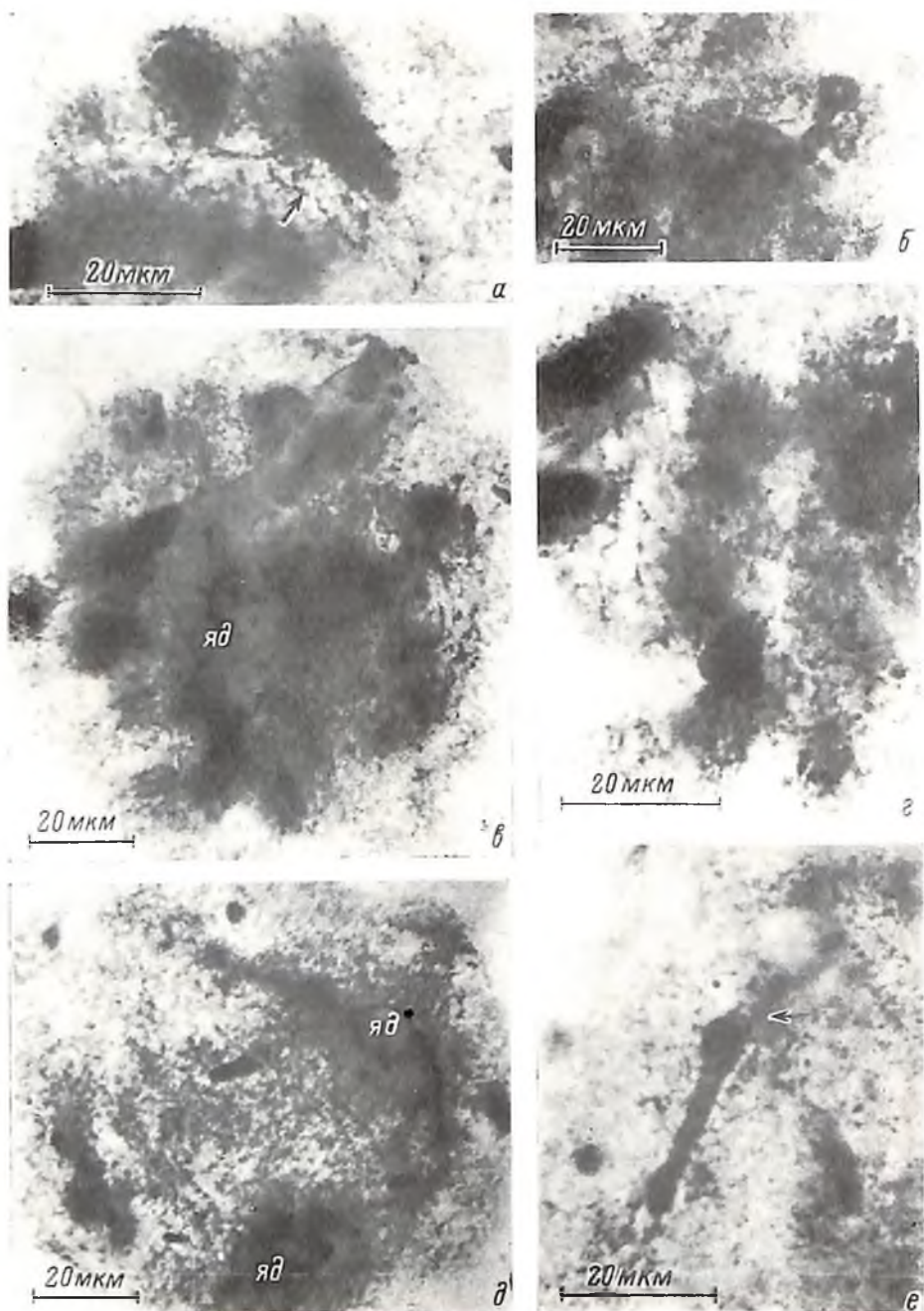


Табл. XIV. Структура политенных ядер во вторичных гигантских клетках трофобласта мышцы.

a—г — политенные хромосомы состоят из крупного гетерохроматического блока и эухроматической части в виде веера декоонденсированных нитей: *a* — от некоторых из гетерохроматических блоков отходят тонкие нити, напоминающие петли хромосом типа ламповых щеток (стрелки), *б—г* — гетерохроматический блок у ядрышкообразующих хромосом примыкает к ядрышку; *д, е* — сетчатые ядра; *е* — в части ядрышкообразующей хромосомы, примыкающей к ядрышку, видны структуры, напоминающие диски (стрелка); *а, г, е* — в эухроматической части хромосомы разбегены и выявляются в виде отдельных прядей. Окраска ацето-орсеином.

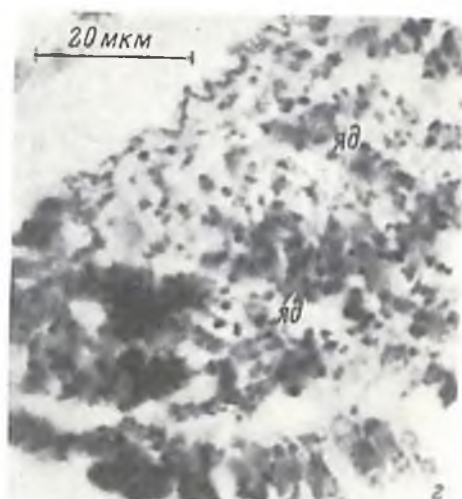
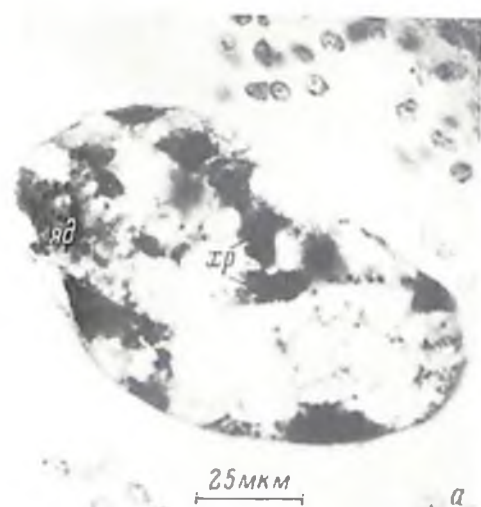


Табл. XV. Ядра клеток трофобласта серой полевки на 10-е (а, б) и 14-е сут (в—г) развития.
 а — хромосомы в виде пучков лежат под ядерной оболочкой; б — крупные ядрышки имеют ячеистое строение, состоит из множества округлых мелких ядрышек; в — пучки хромоме уже разделились на множество хроматиновых нитей, лежащих под ядерной оболочкой, вся кариоплазма занята многочисленными небольшими ядрышками; г — под ядерной оболочкой видны парные эндохромосомы и розетки из них, небольшие ядрышки окружены Фельген-положительным кольцом и прилегающими эндохромосомами. Окраска: а, б, в — обработка по Фельгену; г — ацето-орсеином.

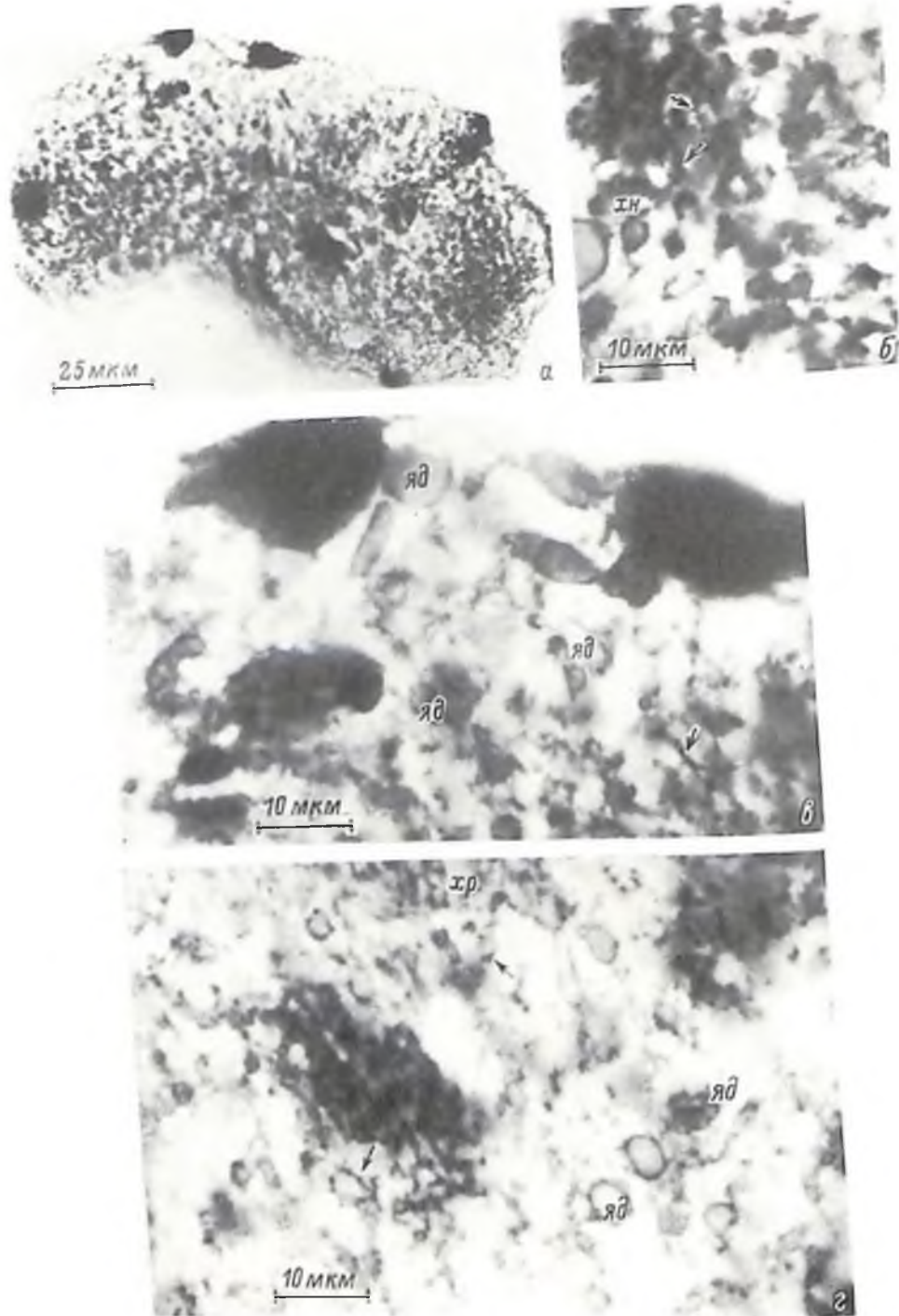


Табл. XVI. Ядра клеток трофобласта серой полевки на 10-е сут развития.

а — ядро сверхгигантской клетки, видны пучки хромонем в процессе разъединения; б—в — участки того же ядра при большем увеличении, от разрыхленных пучков хромонем отделяются хромосомные нити (стрелка), мелкие ядрышки окружены Фельсен-положительным кольцом, от них отходит хромосомные тельки. Обработка по Фельсену.

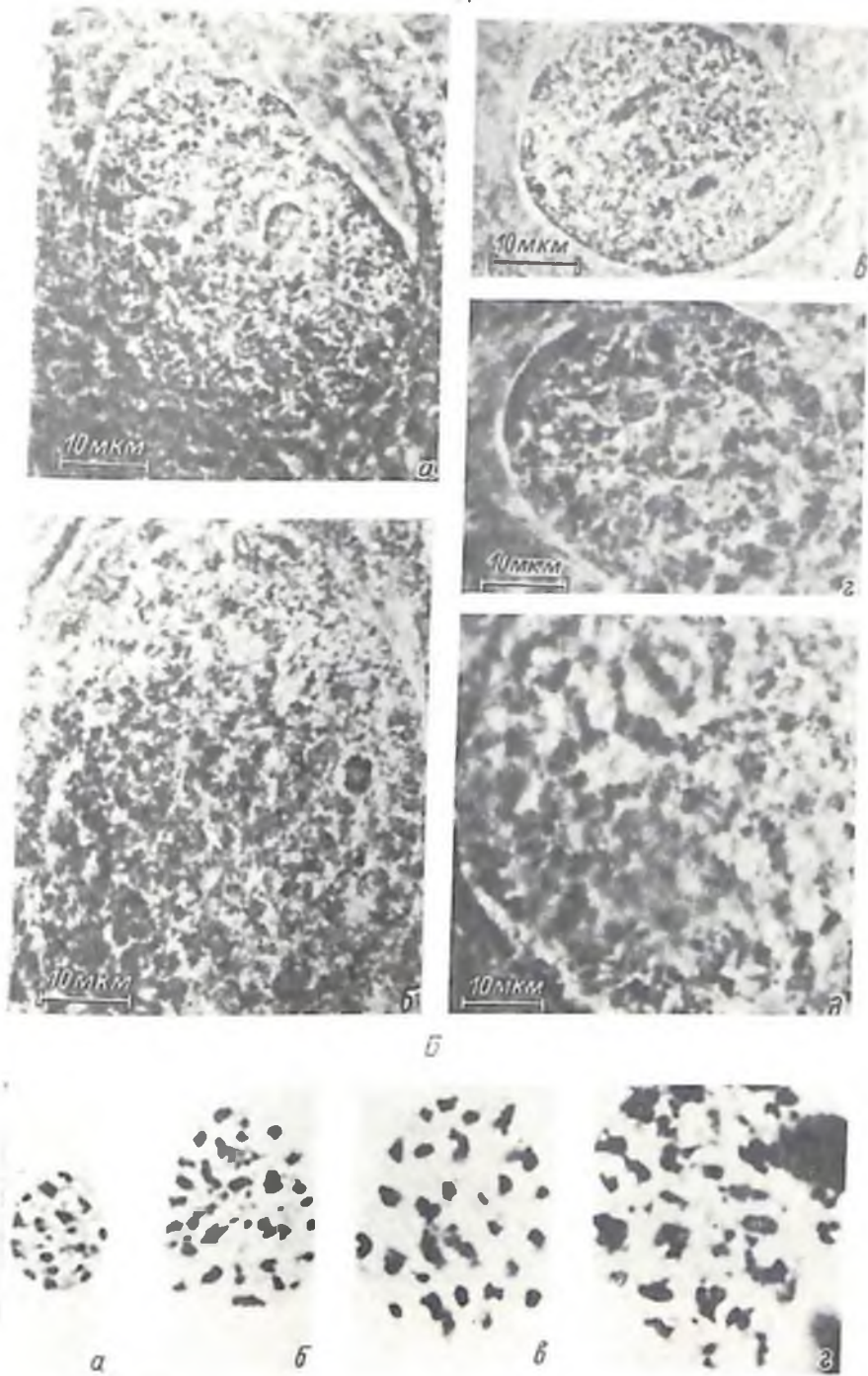


Табл. XVII, А. Структура политенных ядер во вторичных гигантских клетках трофобласта крысы при наблюдении с фазовым контрастом.

а—в — высокополиплоидные ядра имеют сетчатый вид, хромомеры деконденсированы и рассеяны по карิโอплазме (а) или же слабо конденсированы и в отдельных участках собраны вместе (а, б); г, д — хромомеры конденсированы в большей степени и объединены в пучки.

Табл. XVII, Б. Эпдомитоз в трофобласте человека (по: Therman et al., 1983).

а—г — последовательные стадии изменения хромосом в ходе полиплоидизации.

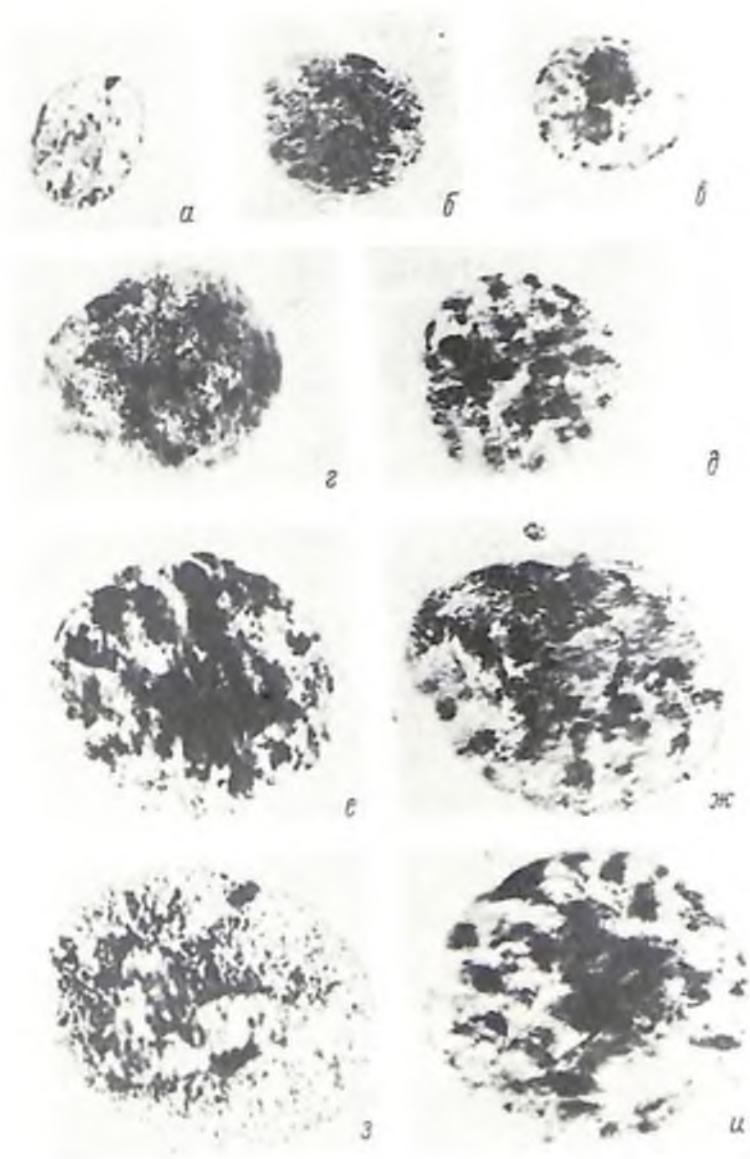


Табл. XVIII. Увеличение тельца Барра в ходе политенизации ядра в гигантских клетках трофобласта крысы.

а — 16с; б, в — 32с; г, д — 64с; е, ж — 128с; з, и — 256с. а, б, г, з — ядра с деконденсированным хроматином; в, д — ж, и — ядра с пучками конденсированного хроматина; е — и — в одном ядре присутствуют по два тельца Барра, лежащих на разном расстоянии друг от друга. Обработка по Фельгену.

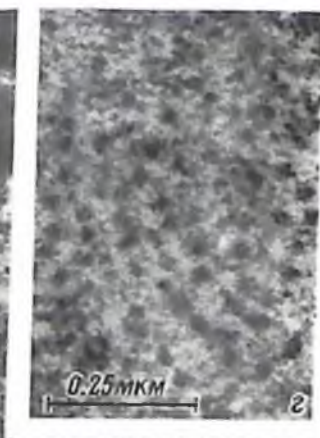
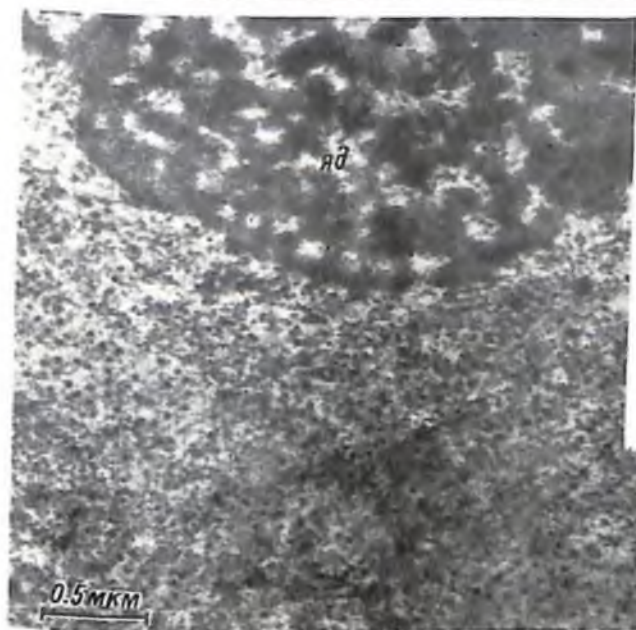
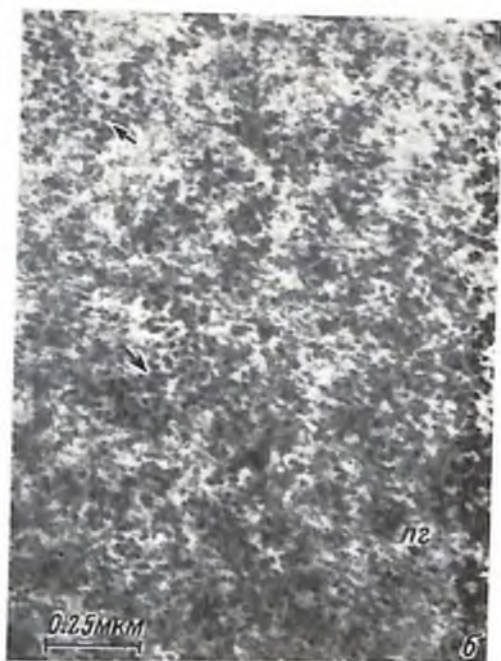
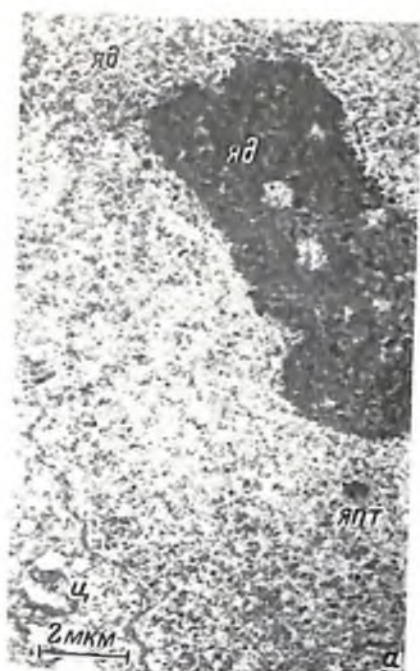


Табл. XIX. Ультраструктура ядер с деконденсированным хроматином в гигантских клетках трофобласта на 13-е (а, б) и 17-е сут (в, г) развития плаценты крысы.

а — деконденсированные хромомеры равномерно рассеяны по ядру, слой пристеночного хроматина выражен слабо; б — участок ядра при большем увеличении; видно ориентированное расположение деконденсированных хроматиновых нитей и скопления интерхроматиновых гранул; в — хроматин равномерно распределен по кариоплазме, конденсированный хроматин не выявляется ни под ядерной оболочкой, ни около ядрышка, в ядре обнаруживаются большие светлые пространства, содержащие крупные ($d \approx 40$ нм) умеренно электроплотные гранулы; г — участок светлой зоны при большем увеличении: гранулы находятся в контакте с несколько разрыхленными филаментами.

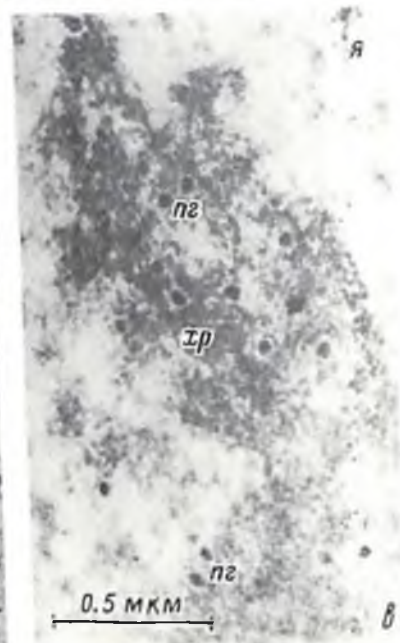
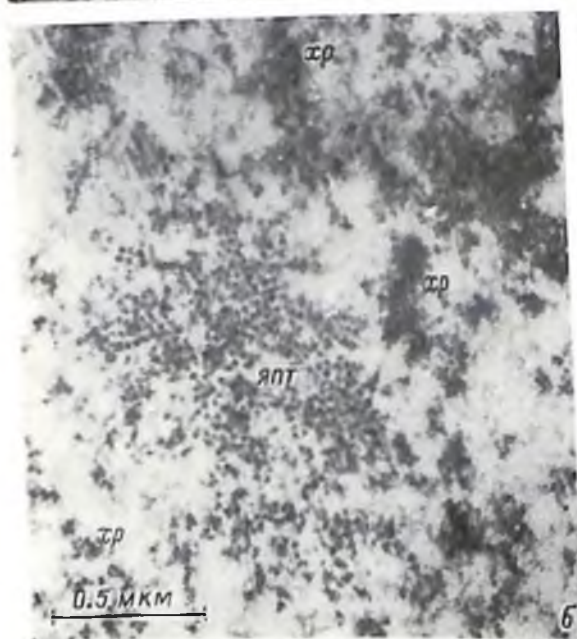
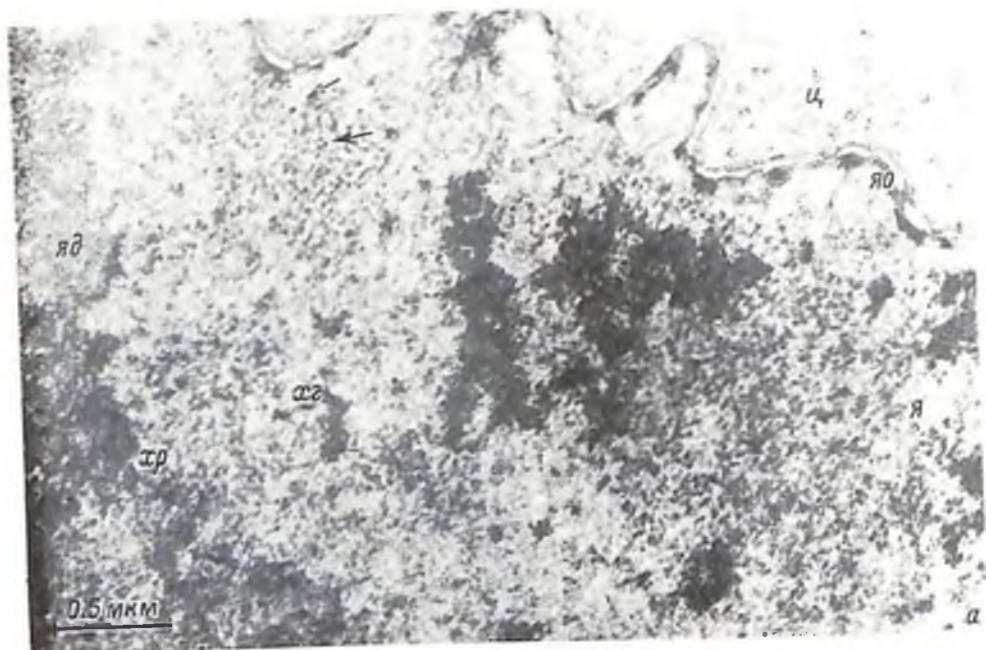


Табл. XX. Тонкое строение ядер с конденсированным хроматином в гигантских клетках трофобласта на 13-е (а) и 14-е сут (б, в) развития плаценты крысы.

а — крупные скопления конденсированного хроматина, зоны деонденсированного хроматина с нитями, ориентированными от ядрышка к участку конденсированного хроматина, в последнем видны также мелкие хроматиновые глыбки и гранулы (стрелка); б — глыбки конденсированного хроматина прилегают к ядрышку подобно тельцу; в — внутри хроматиновых масс находится перихроматиновые гранулы, окруженные светлыми «двориками».

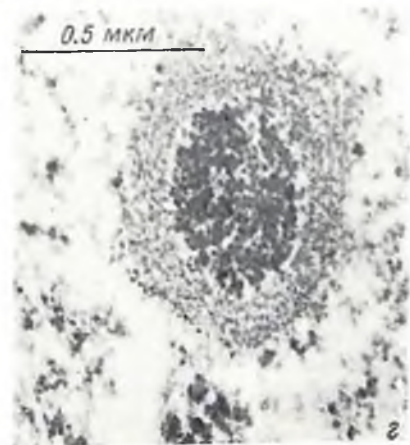
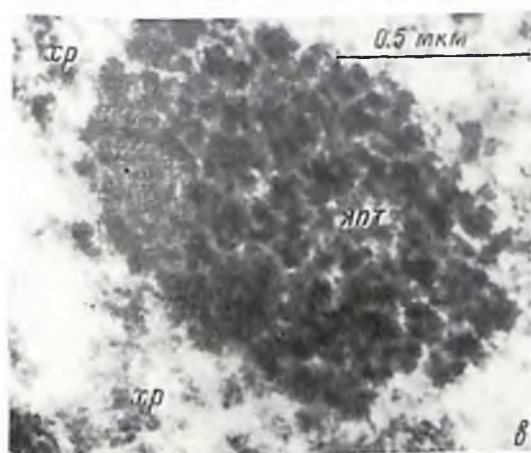
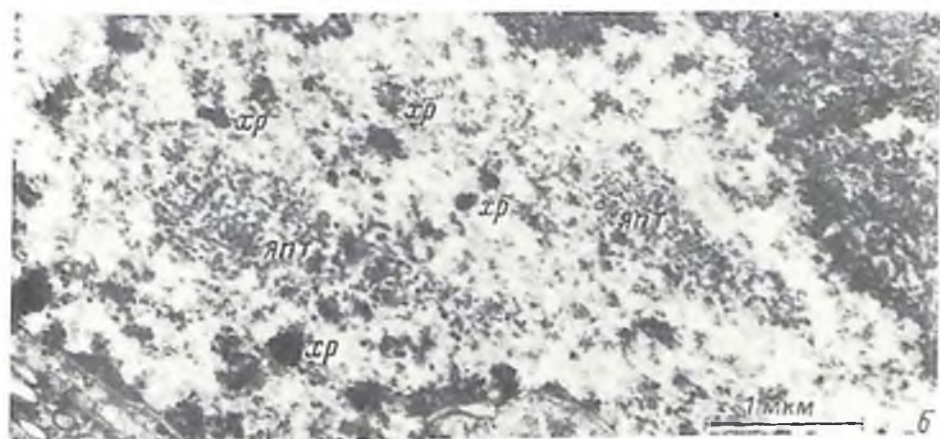
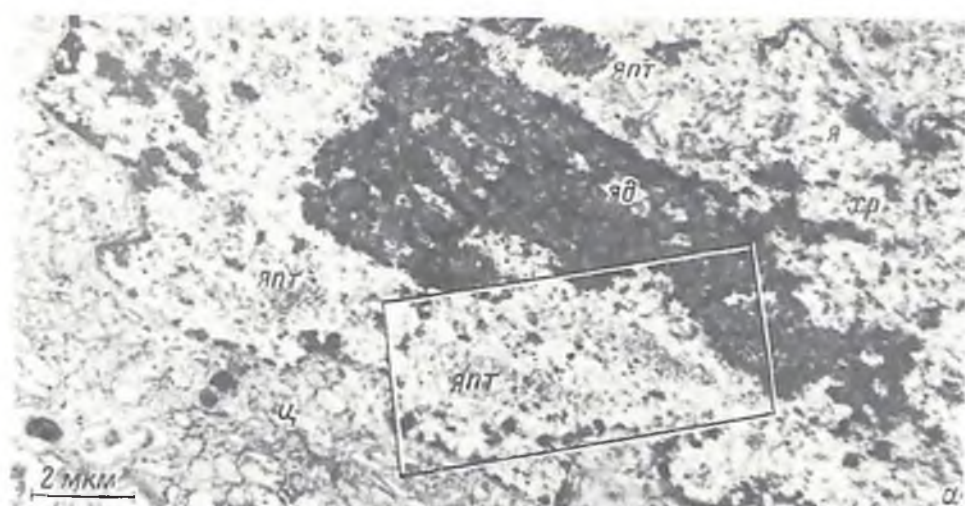


Табл. XXI. Ядро с конденсированным хроматином в клетке трофобласта на 17-е сут развития плаценты крысы.

а — в ядре отчетливо выделяется слой пристеночного и околоядрышкового хроматина, кроме крупного ядрышка, видны ядрышкоподобные тельца; б — участок того же ядра (обведен рамкой) при большем увеличении; мелкогранулярные тельца имеют вытянутую форму, к ним примыкают многочисленные глыбы хроматина; в — крупногранулярное ядрышкоподобное тельце; г — ядерное тельце отличается по морфологии от ядрышка и ядрышкоподобных телец, снаружи оно окружено concentрическим слоем тонких фибрилл.

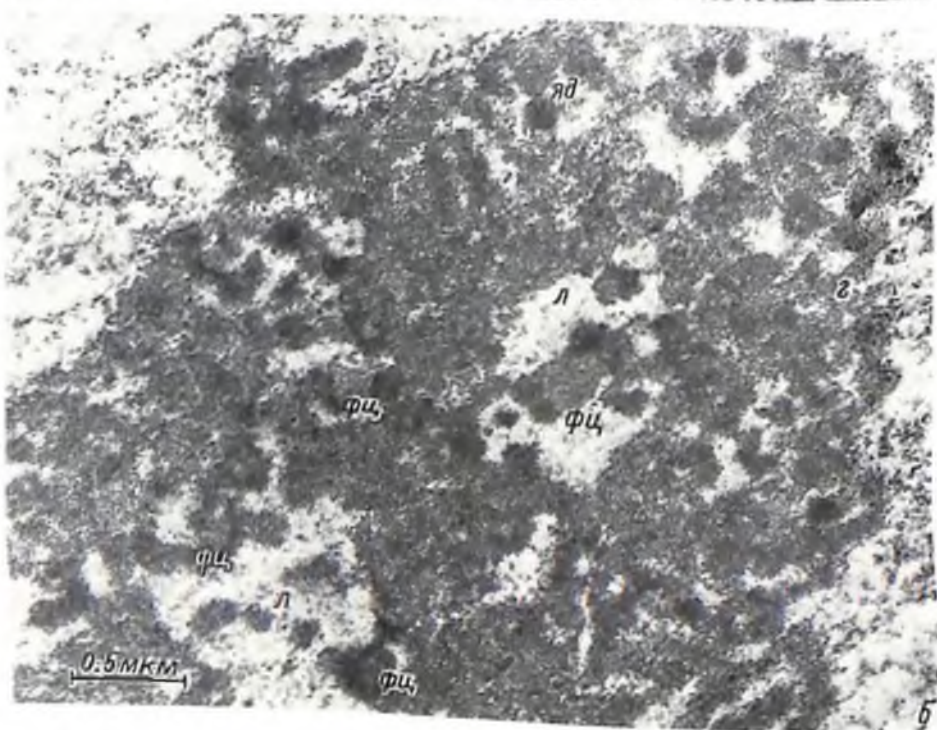


Табл. XXII. Ядрышки в ядрах с деконденсированным хроматином в гигантских клетках трофобласта крысы на 12-е сут развития зародыша.

а — ядрышко имеет нуклеолемное строение, содержит крупные периферические и уплотненные периферические; б — в ядрышке видны фибриллярные центры и скопления фибриллярно-гранулярного компонента.

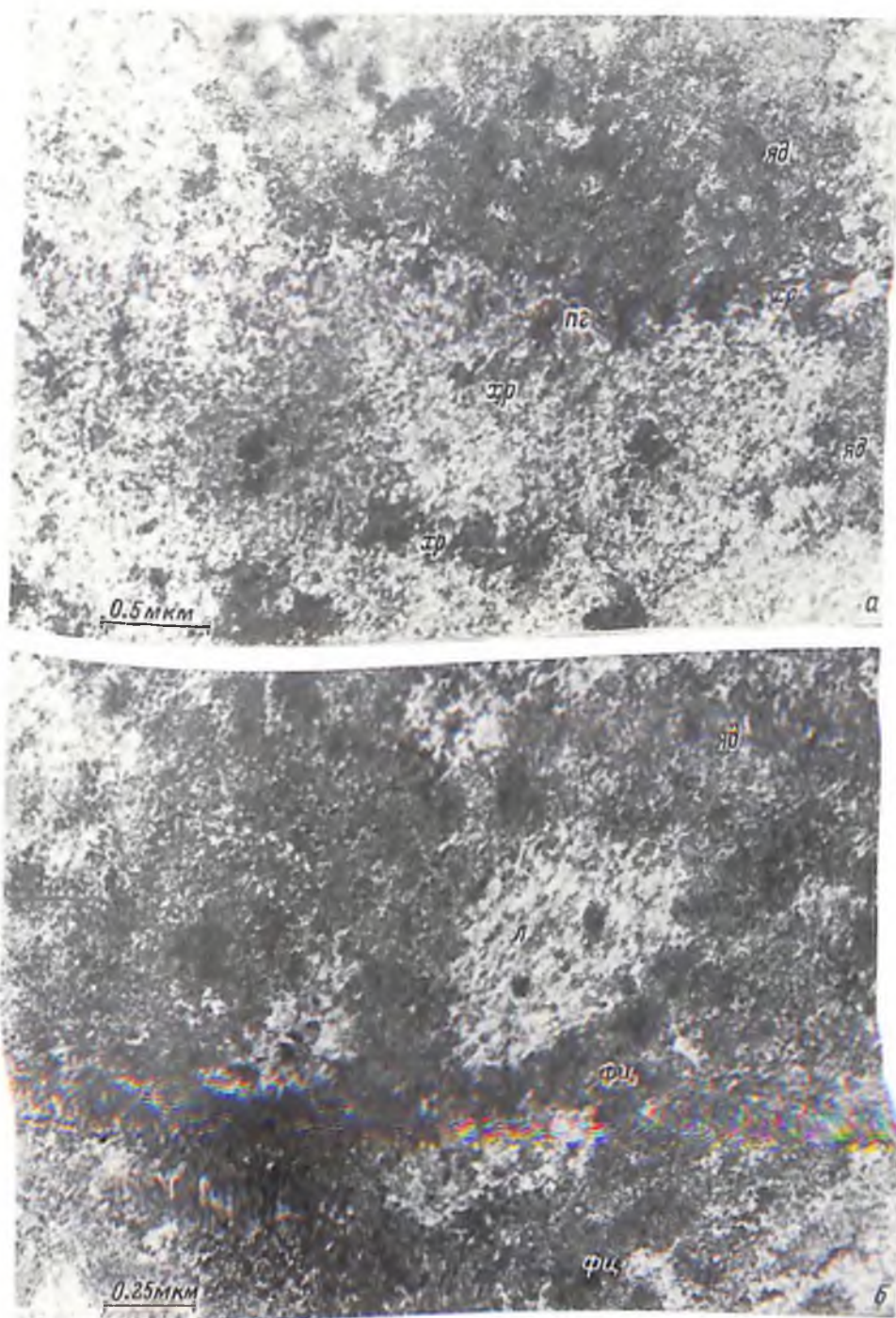


Табл. XXIII. Ядрышки в ядрах с конденсированным хроматином в гигантских клетках трофобласта крысы на 13-е сут развития зародыша.

а — слой конденсированного перинуклеолярного хроматина окружает ядрышки; б — в ядрышках уменьшается количество гранул, в лакунах появляются не только тонкие фибриллы, но и небольшие хроматиновые глыбки.

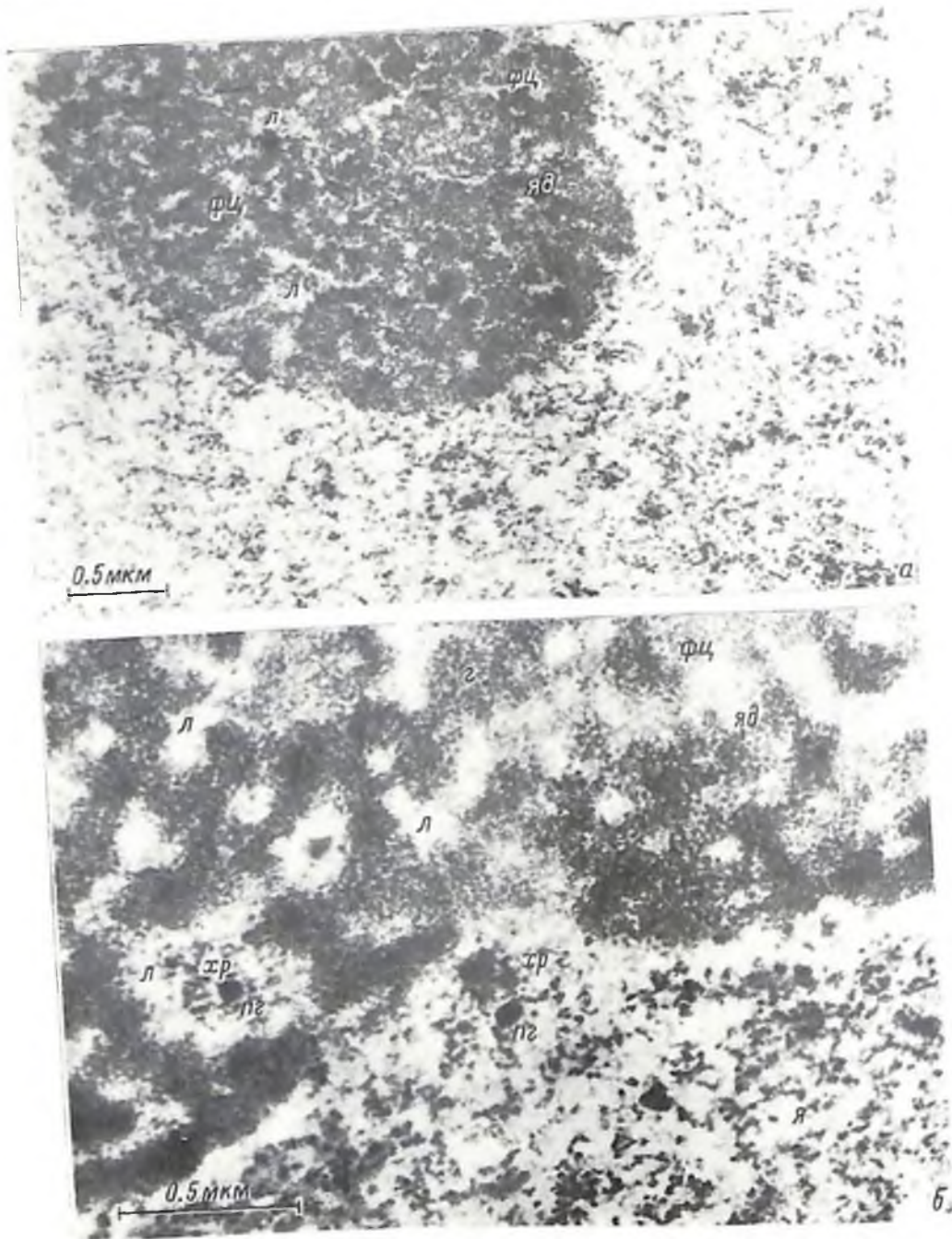


Табл. XXIV. Ядрышки в ядрах с деконденсированным хроматином в гигантских клетках трофобласта на 17-е сут развития плаценты крысы.

а — ядрышки имеют ретикулярное строение, состоят из фибриллярно-гранулярного и фибриллярного компонентов, множества уплощенных лакун, небольшого числа фибриллярных центров; б — лакунарные пространства ядрышка соединяются с кариоплазмой, некоторые лакуны, особенно периферические, содержат хроматиновые тельца ядрышкового организатора, наиболее отчетливо это видно, когда внутри лакунарной зоны имеются небольшие скопления более конденсированного хроматина с перихроматиновыми гранулами.

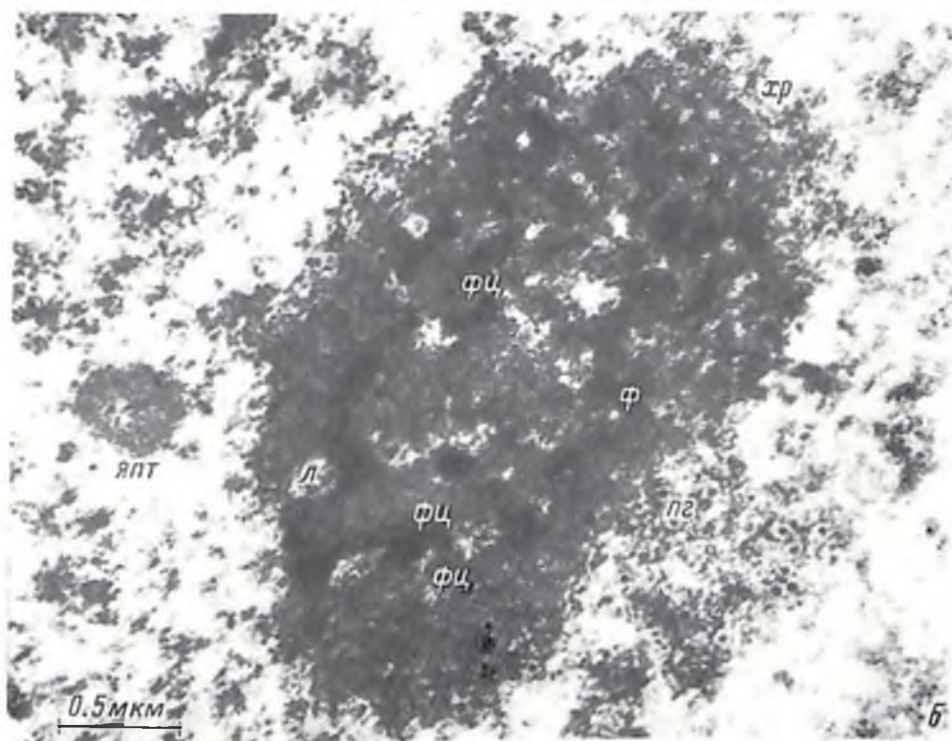
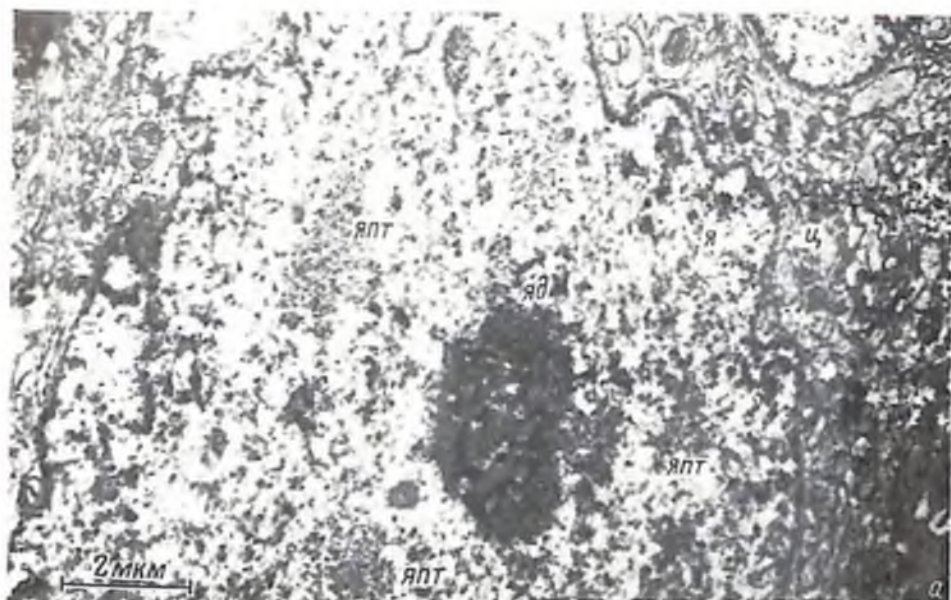


Табл. XXV. Ядрышко в ядре с умеренно конденсированным хроматином в гигантской клетке трофобласта на 17-е сут развития плаценты крысы.

а — ядрышко с участком ядрышкообразующей хромосомы и многочисленные ядрышкоподобные тельца;
б — участок того же ядра, в ядрышке видны фибриллярные центры, в участке ядрышкообразующей хромосомы — многочисленные перихроматиновые гранулы.

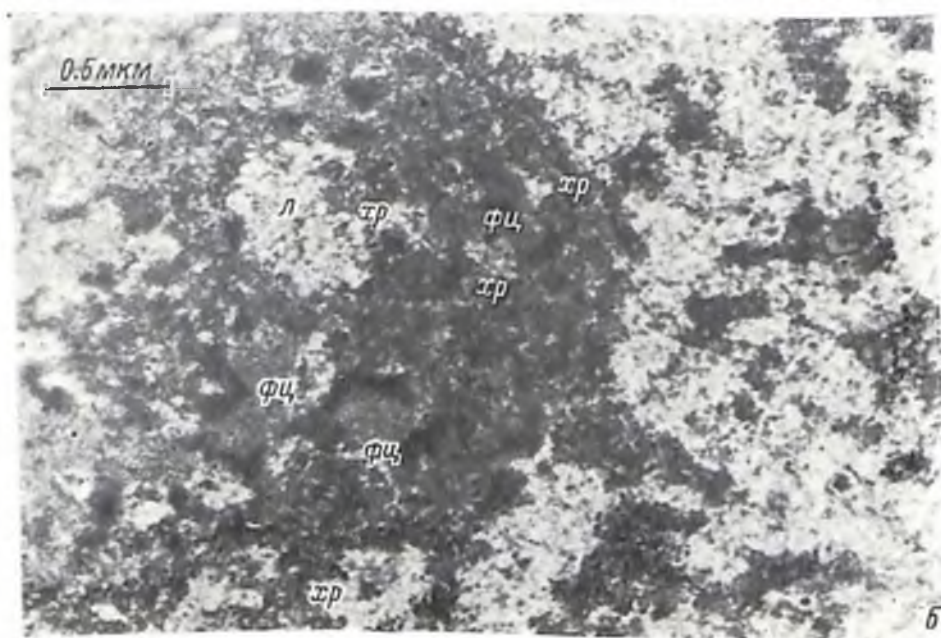
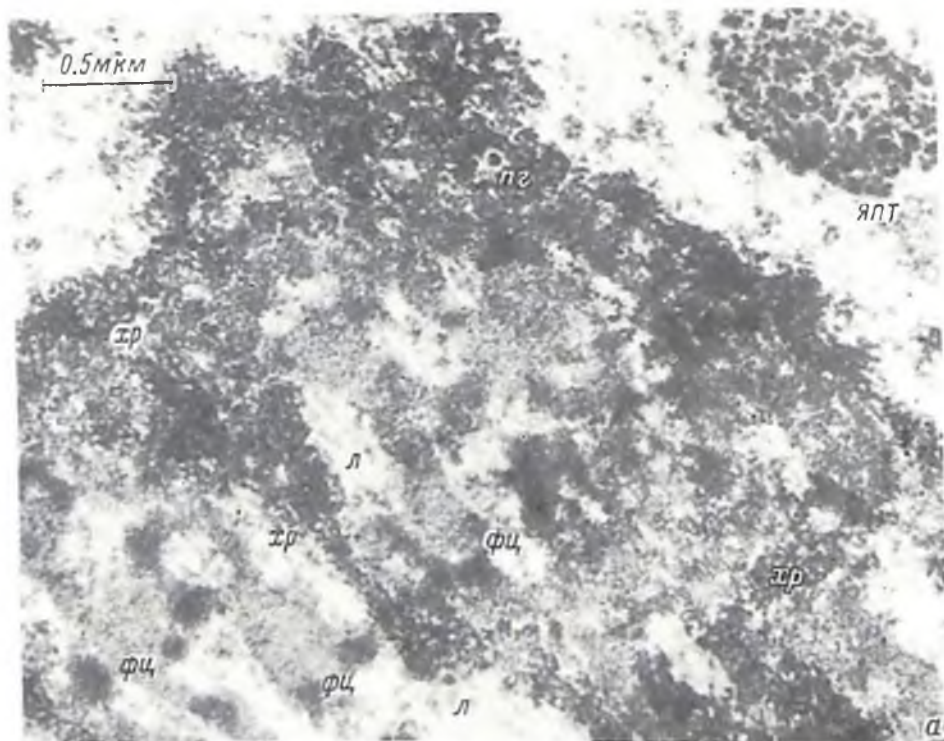


Табл. XXVI. Ядрышки с сильно конденсированным хроматином в гигантских клетках трофобласта крысы на 17-е сут развития.

а, б — ядрышки окружены слоем перинуклеолярного хроматина, отчетливо видно проникновение тиреид ядрышкового организатора по лакунарным районам через все ядрышко, в некоторых случаях хроматин контактирует с фибриллярными центрами.

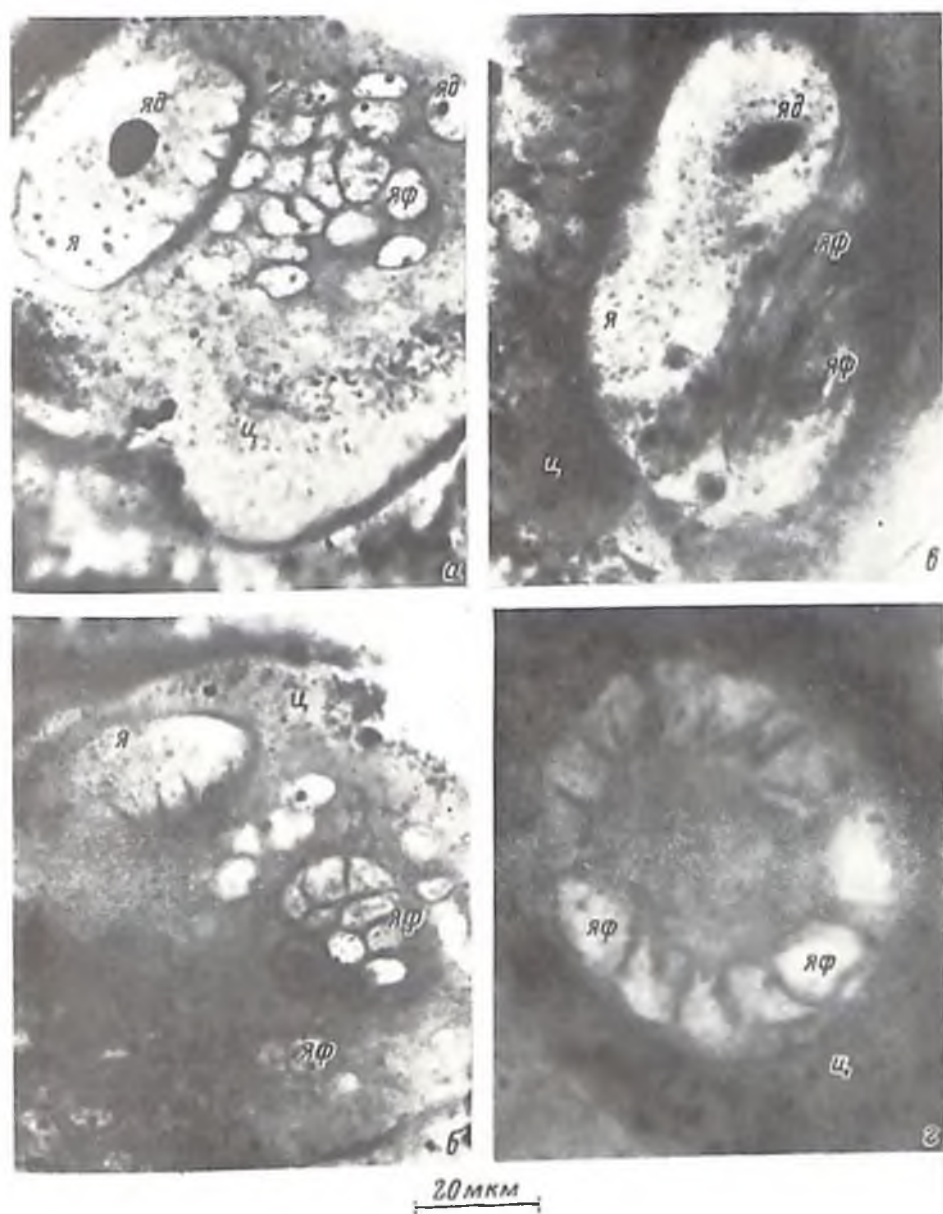


Табл. XXVII. Разделение гигантского ядра на мелкие ядерные фрагменты в трофобласте крысы на 17-е сут развития.

а, б — в ядре гигантской клетки видны многочисленные выросты ядерной оболочки; в — в зоне глубоких инвагинаций ядерной оболочки от исходного гигантского ядра обособляются более мелкие ядерные фрагменты; г — разделение исходного ядра путем врастания в него многочисленных выростов ядерной оболочки.

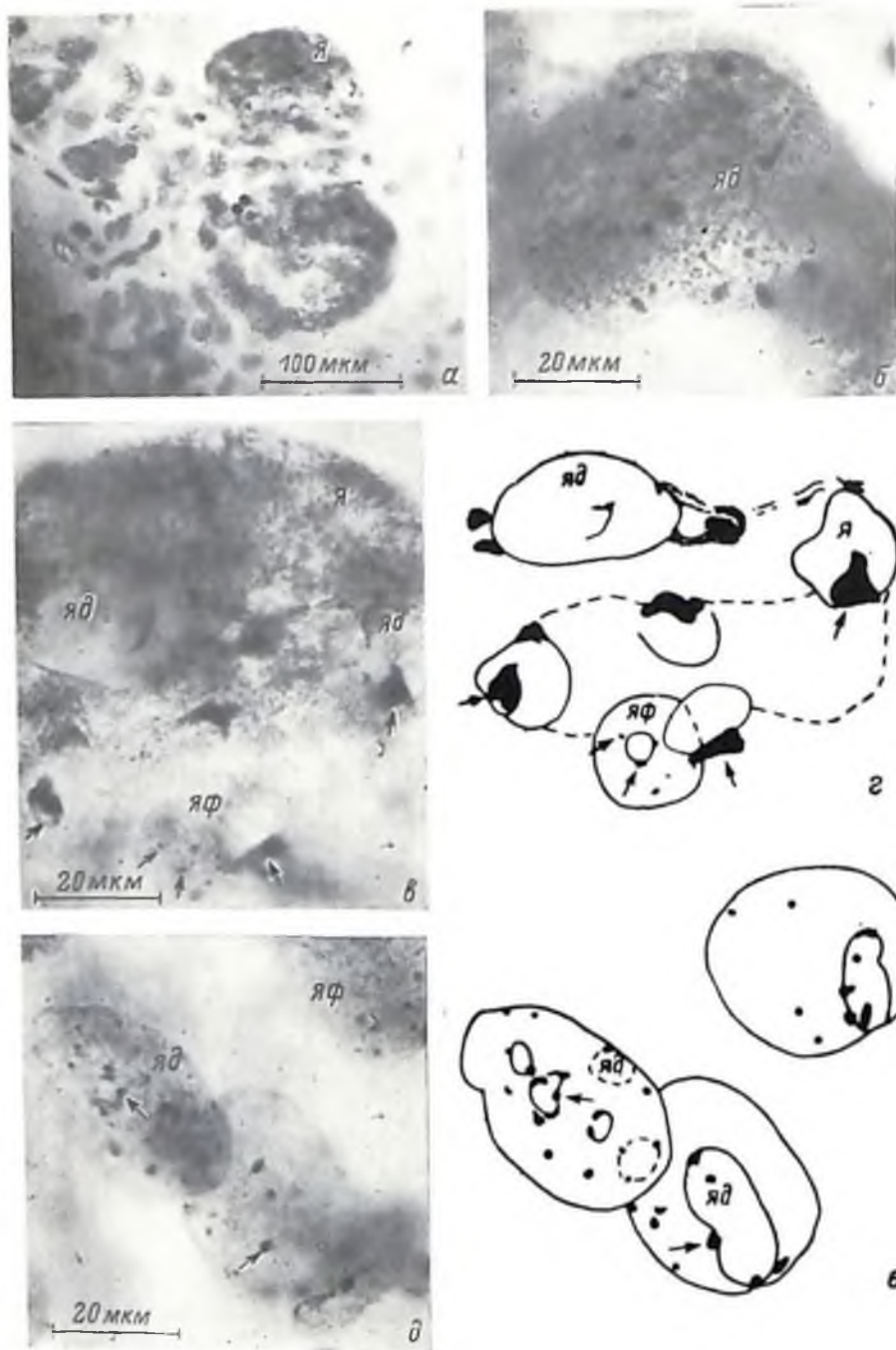


Табл. XXVIII. Разделение гетерохроматиновых блоков ядрышкообразующих хромосом при делении полиплоидных ядер в плаценте мыши.

а (наверху), а, г — еще не разделившаяся часть исходного ядра, около ядрышка видны крупные блоки гетерохроматина; в (внизу), б, д, е — ядерные фрагменты разной величины имеют около ядрышек довольно многочисленные гетерохроматиновые глыбки, значительно меньшего размера, чем остаток исходного ядра. Окраска ацето-орсеином.

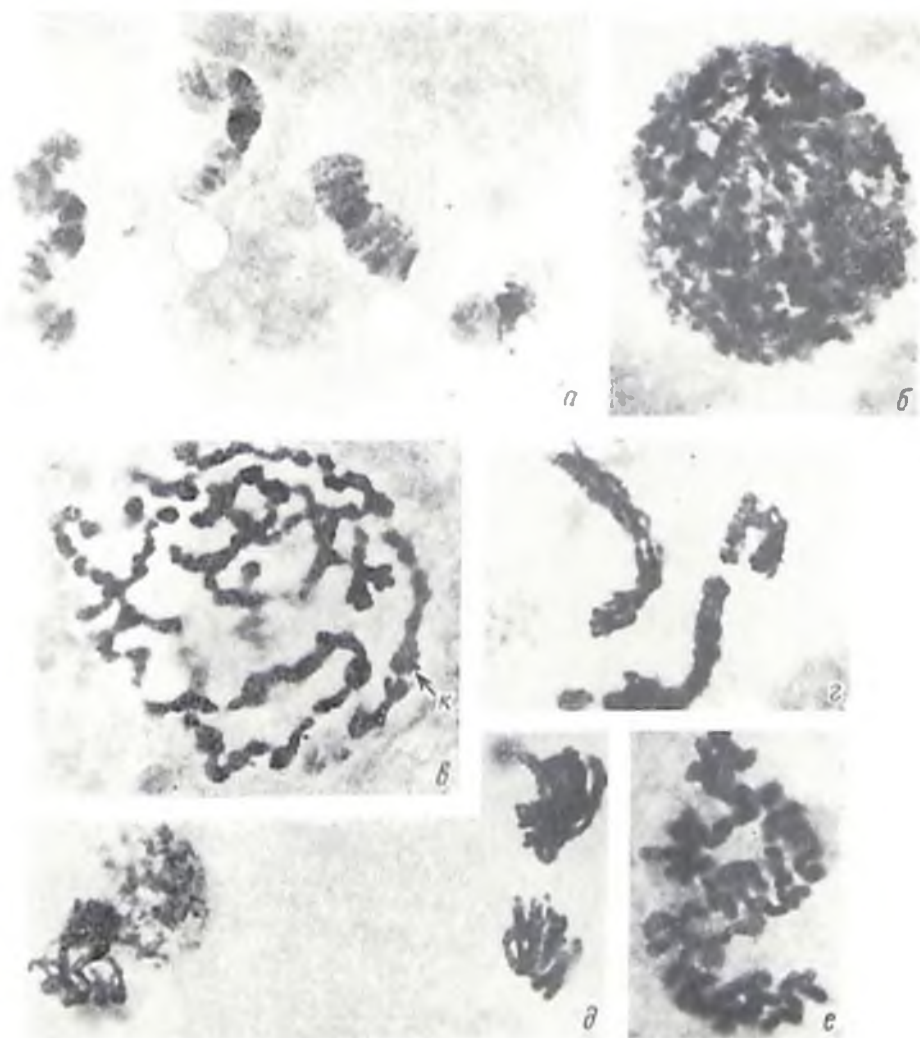


Табл. XXIX. Примеры диссоциации поличенных хромосом с образованием эндомитотических хромосом в слюнных железах галлицы *Dasynura affinis* (а, б) и в клетках задней кишки личинок комара *Culex pipiens* (в—е) (а, б — по: White, 1948; в—е — по: Berger, 1938).

а — поличенные хромосомы; б — эндохромосомы, соединенные с мелкими гранулами, заполняют все ядро; диссоциации поличенных хромосом сопровождается прохождением редукционных митозов; в — ранняя профаза, г — поздняя профаза, д — прометафаза, е — метафаза.

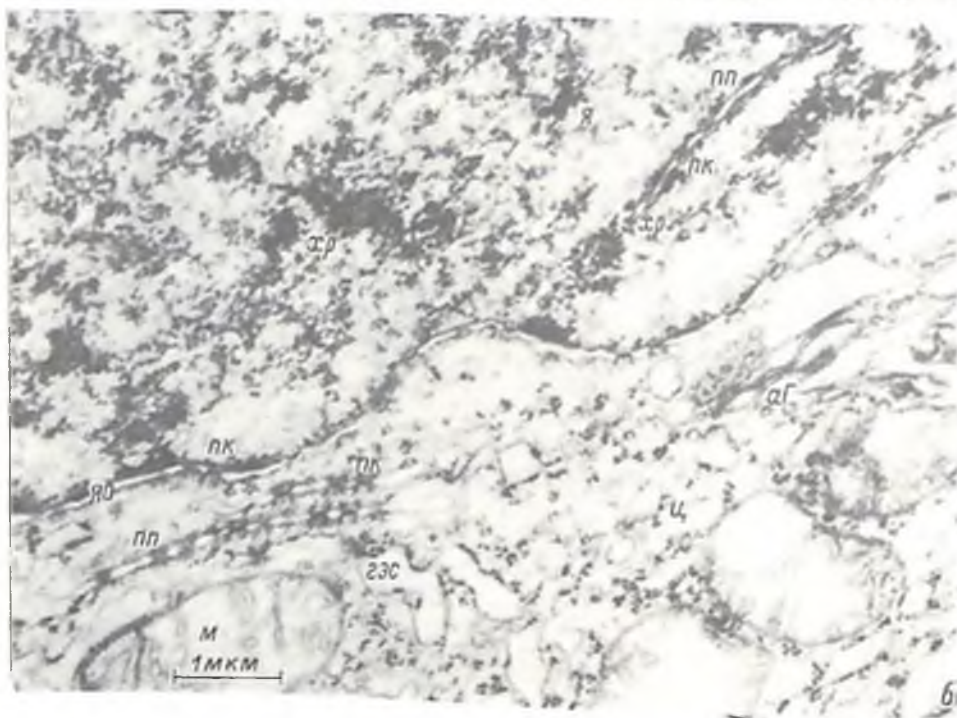
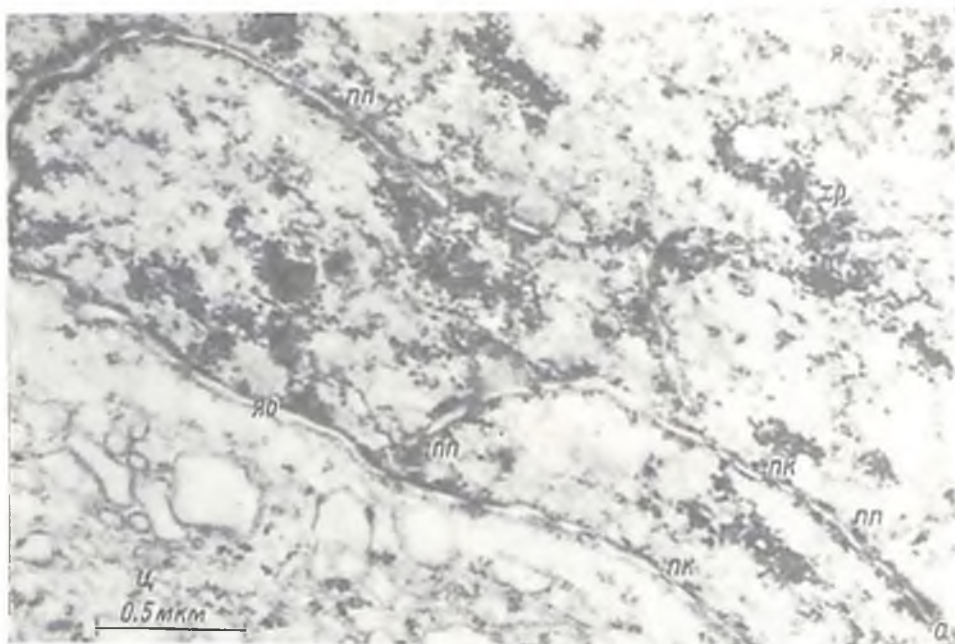


Табл. XXX. Участок гигантской клетки трофобласта на 12-е сут развития плаценты крысы; пористые пластинки в ядре и цитоплазме.

а — внутриядерные пористые пластинки отходят от ядерной оболочки; они содержат поры; б — пористые пластинки в цитоплазме располагаются друг над другом, концевые поры расширяются, образуя систему гранулярной эндоплазматической сети.

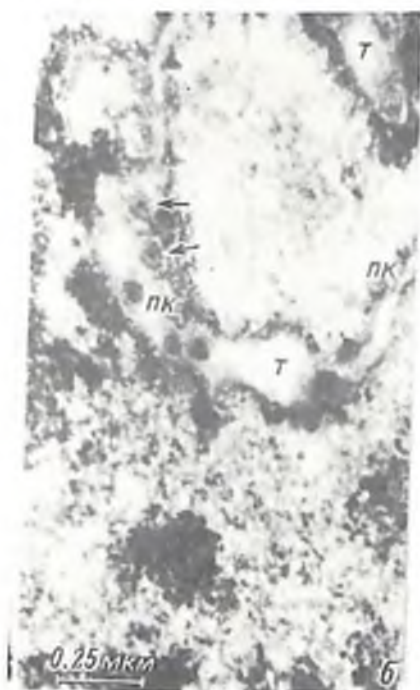


Табл. XXXI. Внутриядерные трубочки и пористые пластинки в ядрах гигантских клеток трофобласта крысы на 13-е сут развития.

а — краевой участок ядра, на поверхности которого имеется большое количество пор, поровые комплексы видны и в зоне внутриядерных трубочек, они имеют тот же размер, но в них более четко различима центральная гранула (стрелка); б — на некоторых участках внутриядерные пористые пластинки переходят в трубочки, в последних выявляются поровые комплексы (стрелка); в — содержимое полостей пористых пластинок электронно-прозрачно и сходно с таковым перинуклеарного пространства, внутриядерные трубочки соединены друг с другом матриксом (стрелка), хроматин контактирует с элементарными мембранами трубочек и пористых пластинок.

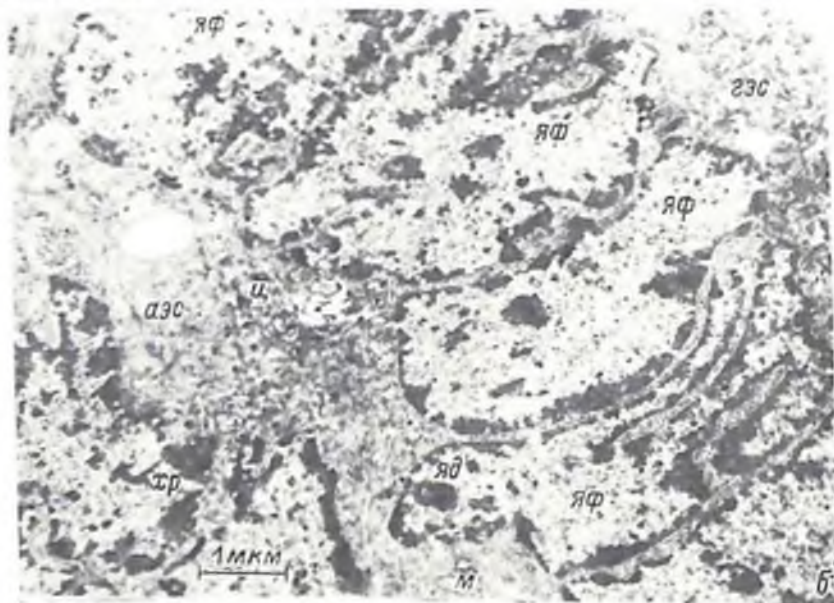
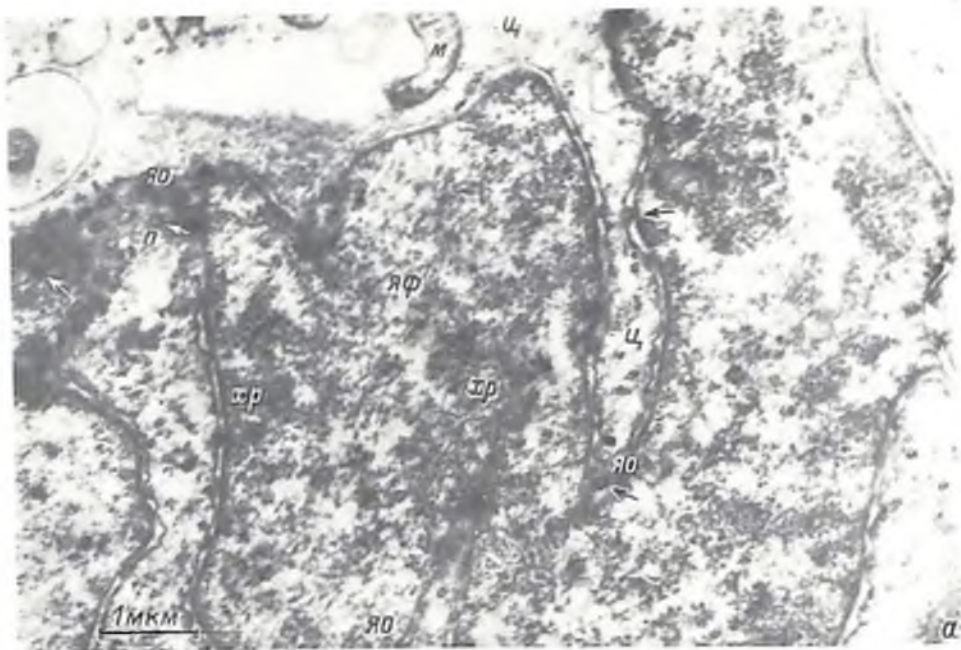


Табл. XXXII. Ядра гигантских клеток трофобласта крысы во время фрагментации на 17-е сут развития.

а — длинные, почти параллельно идущие складки ядерной оболочки проникают в глубину гигантского ядра в начальный период его деления, ядерная оболочка содержит многочисленные поровые комплексы (стрелки); б — участок многоядерной клетки, где ядерные фрагменты еще не рассеялись по цитоплазме, очертания соседних ядер повторяют друг друга, конденсированный хроматин занимает пристеночное положение в ядрах.

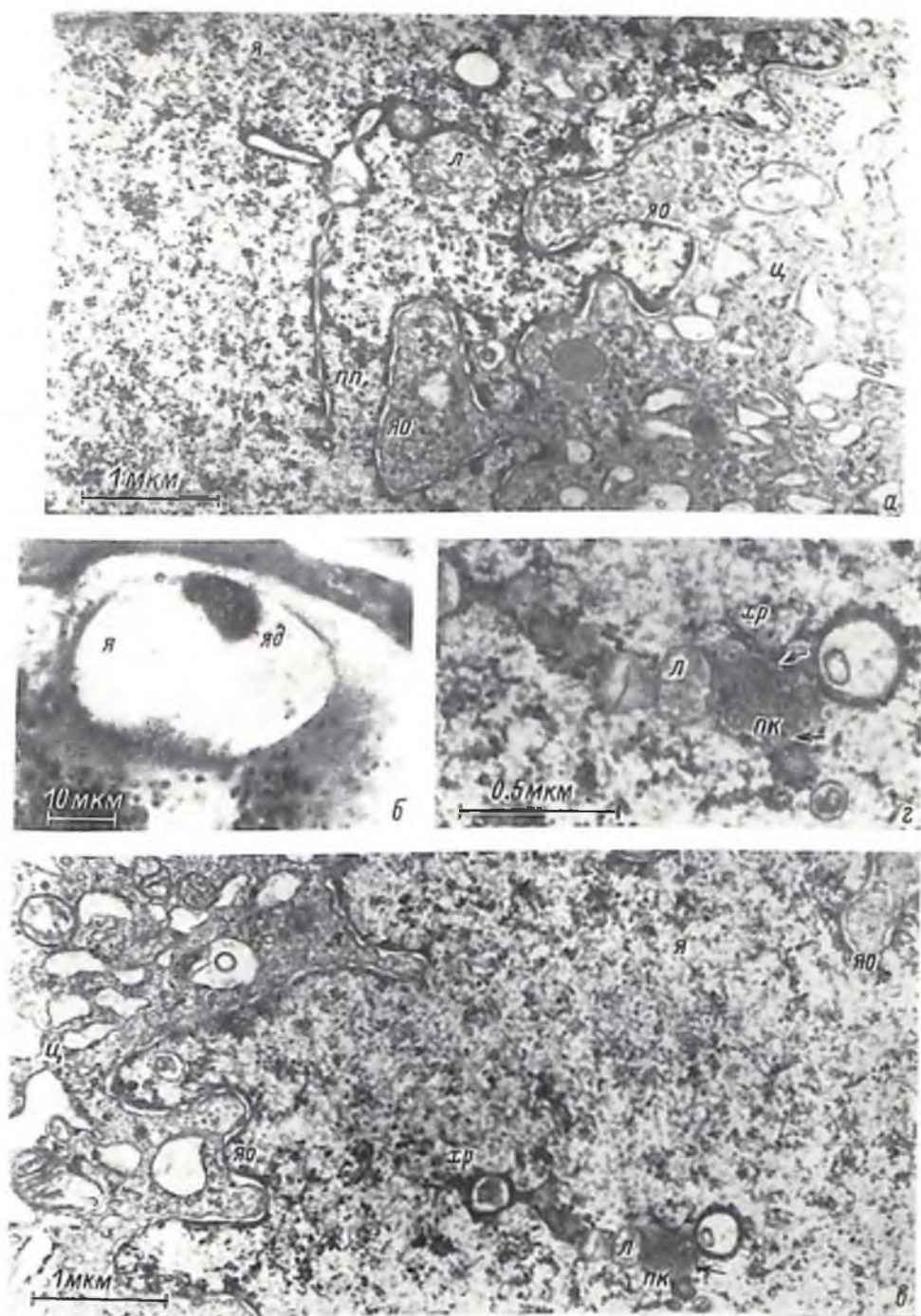


Табл. XXXIII. Гигантские клетки трофобласта на 17-е сут развития плаценты крысы.

а — зона ядра с сильно порезанным контуром, обе ядерные мембраны участвуют в образовании поверхностных впячиваний в глубь ядра, в карноплазме видны внутриядерные пористые пластинки, переходящие в трубочки, последние граничат с лакунами; *б* — в ядрах гигантских клеток видны многочисленные эксцентрично расположенные тонкие выросты ядерной оболочки в виде пучков; *а, в* — соединение друг с другом морфологически различающихся мембранных структур — трубочек, пачек поровых комплексов, лакунарных полостей, поровые комплексы отличаются от таковых ядерной оболочки более плотным расположением и присутствием в них четко очерченной крупной центральной гранулы (стрелка).

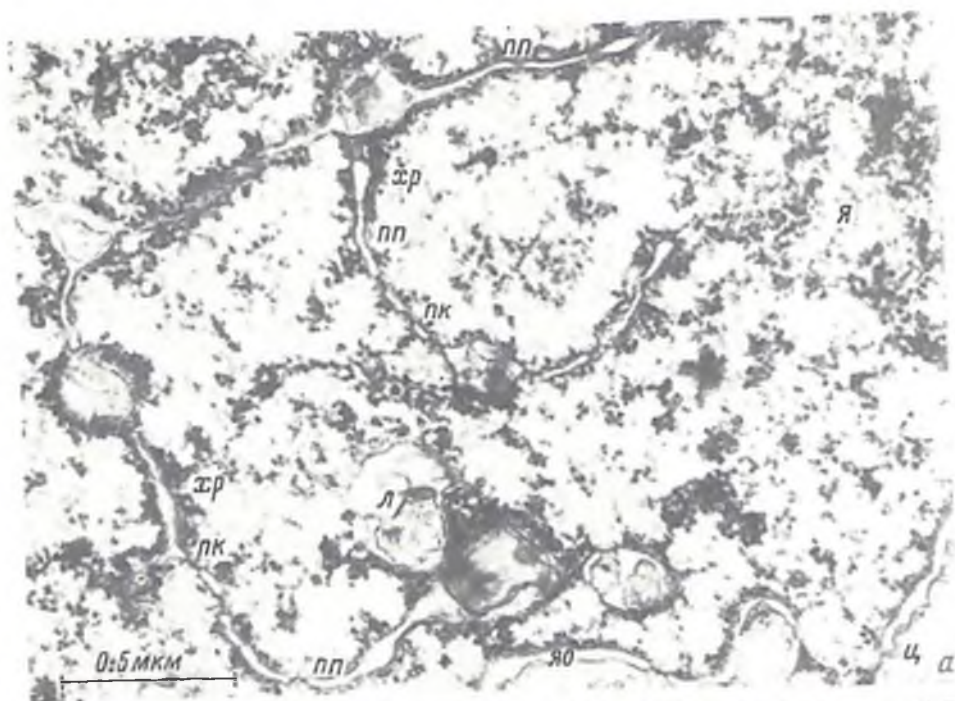


Табл. XXXIV. Гигантская клетка трофобласта крысы с сильно нарезанными контурами ядра на одном полюсе.

а — внутриядерные пористые пластинки располагаются главным образом в складчатой зоне ядра; отходя от ядерной оболочки, они обособляют участки кариоплазмы, которые напоминают ядерные фрагменты; б — взаимное расположение трубочек, лакун и внутриядерных пористых пластинок, переход последних в трубочки, соединяющие их с ядерной оболочкой и лакунками; складка ядерной оболочки с тангентальными срезами через поровые комплексы.

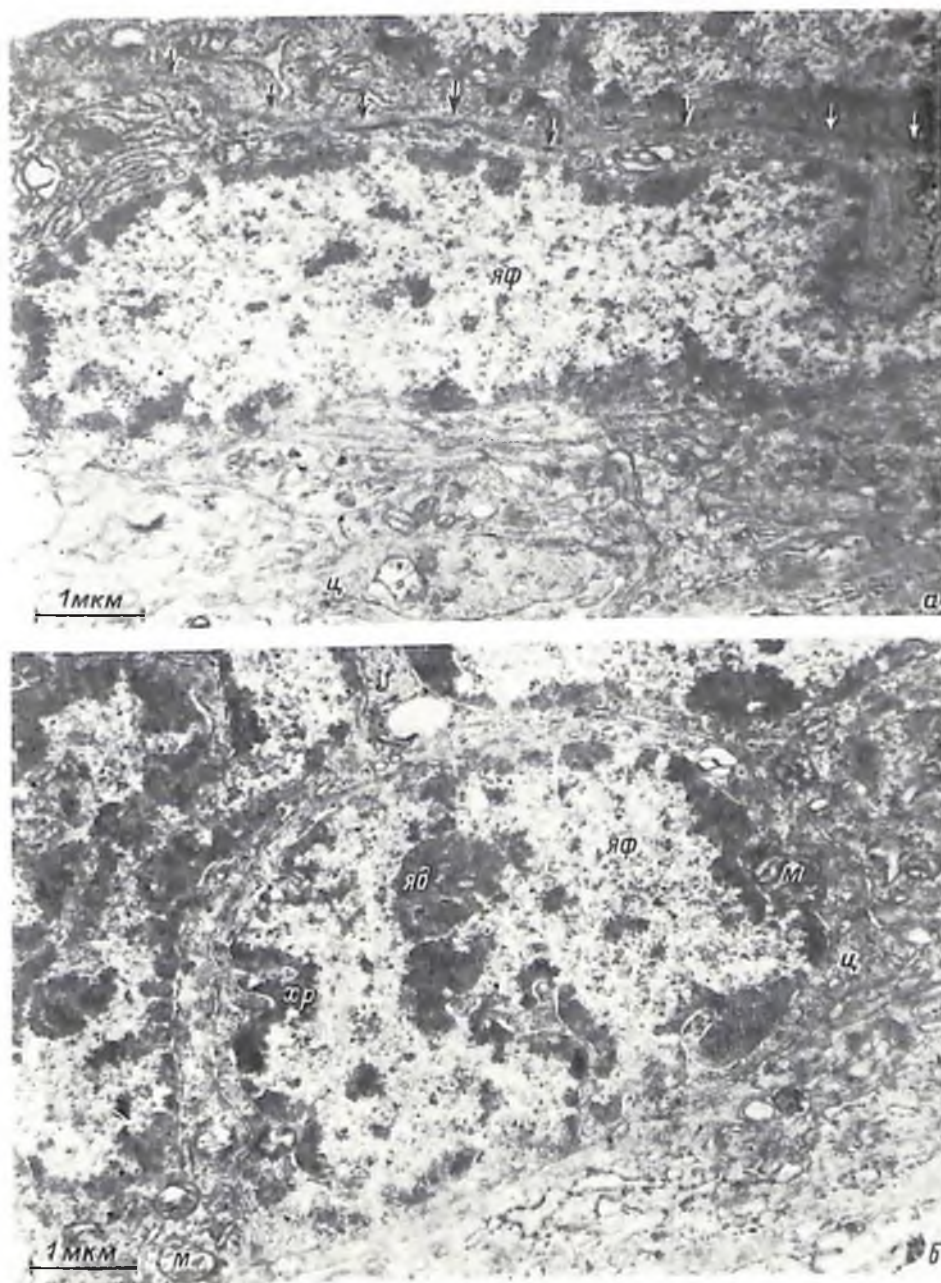


Табл. XXXV. Фрагментация поликлоидного ядра в гигантской клетке трофобласта крысы на 17-е сут развития.

а — ядерный фрагмент с зоной цитоплазмы отделен от остальных ядер при помощи плоской цистерны гладкой эндоплазматической сети (стрелки), в нижней части ядерного фрагмента (слева) наружная мембрана образует выросты в сторону цитоплазмы в виде плоских ветвящихся цистерн; б — обособившаяся клетка имеет округлую форму и содержит интактное ядро, в цитоплазме имеются все органеллы.

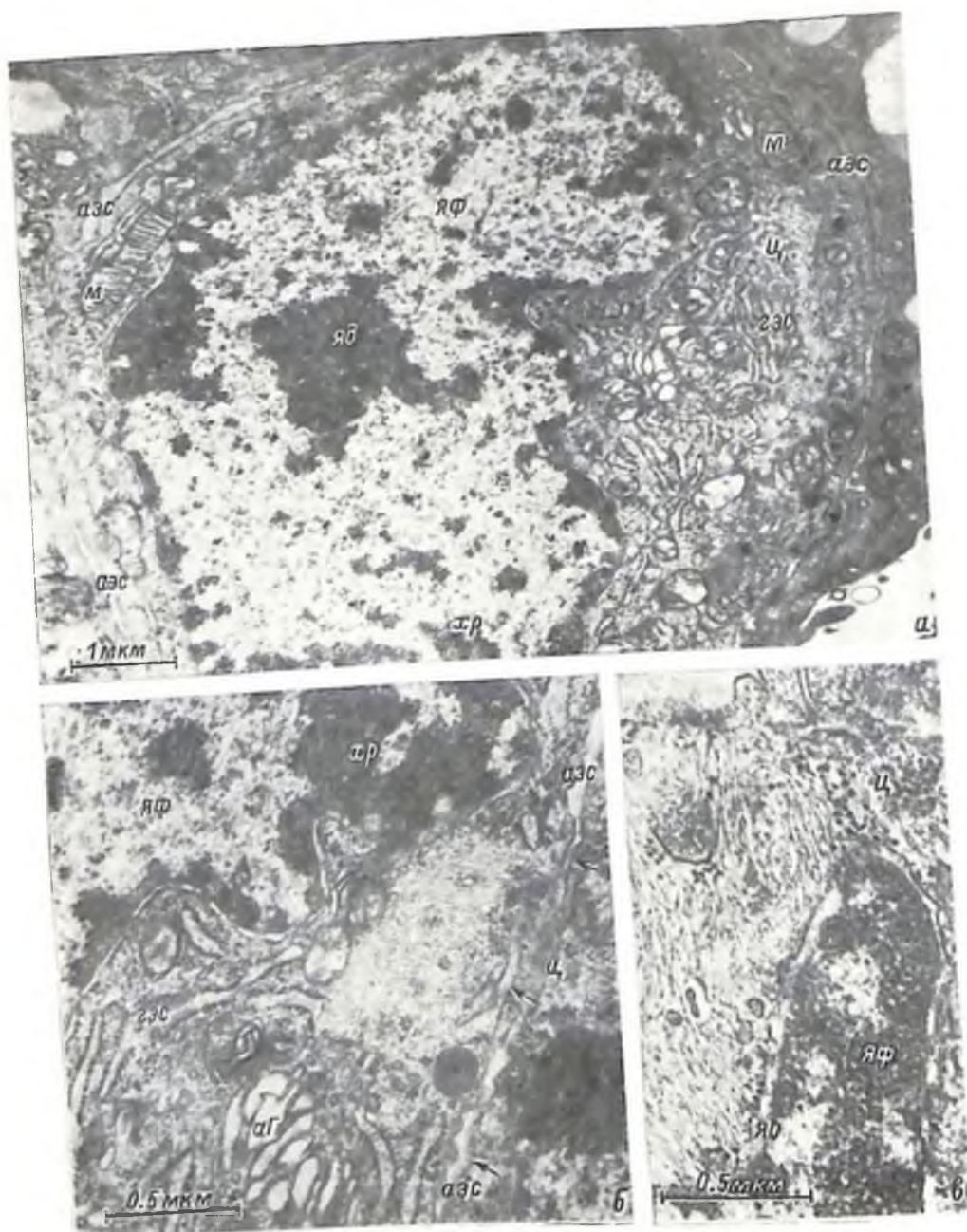


Табл. XXXVI. Фрагментация полинуклеоидного ядра в гигантской клетке трофобласта крысы на 17-е сут развития.

а — ядерный фрагмент с обособленной зоной цитоплазмы располагается на периферии многоядерной гигантской клетки трофобласта, цистерны агранулярной эндоплазматической сети несколько расширены; *б* — пучок микрофиламентов находится около ядерной оболочки, стрелками выделена цепочка цистерн агранулярной эндоплазматической сети; *в* — продольный срез через пучки микрофиламентов, одним концом микрофиламенты связаны с наружной ядерной мембраной ядерного фрагмента, другим контактируют с мембранами агранулярной эндоплазматической сети.

	Стр.
Введение	3
Г л а в а 1. Цитологические аспекты взаимодействия между трофобластом и клетками эндометрия в ходе имплантации и плацентации	5
Происхождение и основные функции трофобласта	5
Децидуальная реакция и ее роль в формировании материнской части плаценты	6
Активная роль клеток трофобласта в процессах имплантации и плацентации	9
Межклеточные взаимодействия на начальных этапах имплантации зародыша и их значение при дифференцировке клеток трофобласта	17
Г л а в а 2. Половой хроматин и его значение при исследовании процессов раннего развития млекопитающих	21
История открытия и природа полового хроматина	21
Биологическое значение полового хроматина	24
Поведение инактивированной X-хромосомы в клеточном цикле	26
Динамика и механизм инактивации X-хромосом в раннем онтогенезе	27
Поведение полового хроматина в оогенезе и сперматогенезе	32
Значение исследований полового хроматина	33
Г л а в а 3. Общие представления о соотношении различных механизмов полиплоидизации клеток	35
Полиплоидия, эндомитоз, эндорепродукция, политения	35
Наиболее общие особенности политения и ее распространение в животном и растительном мире	44
Многоядерные клетки и синцитий как одна из форм полиплоидии	49
Г л а в а 4. Многократное умножение генома в гигантских клетках трофобласта и в децидуальных клетках	52
Кариметрическое определение степени ploидности гигантских клеток трофобласта крысы	52
Цитоспектрофотометрическое и цитофлуорометрическое определение степени ploидности гигантских клеток трофобласта ряда грызунов	53
Темпы полиплоидизации клеток трофобласта. Влияние степени полиплоидии на продолжительность цикла ядра	59
Степень полиплоидии ядер клеток трофобласта соединительной зоны плаценты крысы и способы их полиплоидизации	61
Полиплоидизация ядер третичных гигантских клеток трофобласта крысы	65
Полиплоидизация децидуальных клеток в норме и в искусственно образованной децидуоме у грызунов	66
Полиплоидизация клеток метриальной железы	68
Г л а в а 5. Морфология политенных хромосом в трофобласте грызунов	72
Светооптическое изучение политенных хромосом	72
Изучение политенных хромосом с помощью фазово-контрастной микроскопии	78
Две стадии в цикле политенного ядра в зависимости от времени синтеза ДНК и морфологии хромосом	80
Половой хроматин как маркер интерфазного ядра при изучении полиплоидизации клеток	83
Отличительные черты политения в гигантских клетках трофобласта. Характеристика неклассической формы политения	88
Дополнительные доказательства политения в трофобласте млекопитающих (из истории вопроса)	92
Г л а в а 6. Ультраструктурная организация политенных хромосом в клетках трофобласта млекопитающих	94
Г л а в а 7. Изменение функционального состояния ядрышка и района ядрышкового организатора в цикле эндорепродукции и в ходе дифференцировки клетки	99

Поведение ядрышка в цикле эндорепродукции	99
Фибриллярный центр ядрышка в интерфазе, в ходе митоза и мейоза	100
Изменение ультраструктурной организации ядрышка в цикле полиплоидного ядра и в ходе дифференцировки клеток трофобласта	103
Глава 8. Фрагментация ядер гигантских клеток трофобласта — терминальный этап дифференцировки	107
Фрагментация гигантских ядер — закономерный процесс	107
Пути преобразований структуры полиплоидных хромосом и возможность пере- хода полиплоидных ядер в полиплоидные или полигеномные	111
Реактивность мембран ядерной оболочки в ходе дифференцировки гигант- ских клеток трофобласта крысы при фрагментации их ядер и компарт- ментализации цитоплазмы	116
Глава 9. Возможное биологическое значение полиплоидии и других цитологиче- ских особенностей клеток трофобласта и Decidua	127
Взаимосвязь между фагоцитозом и репродукцией хромосомного материала	127
Многообразие способов репродукции клеток трофобласта и необратимый харак- тер их дифференцировки	128
Значение полиплоидии и особой программы развития клеток трофобласта	131
Примеры, иллюстрирующие защитную роль полиплоидных клеток	133
Заключение	136
Литература	138
Микрофотографии	153

Евгения Викторовна Зыбина
ЦИТОЛОГИЯ ТРОФОБЛАСТА

Утверждено к печати Институтом цитологии Академии наук СССР

Редактор издательства Л. С. Евстигнеева, Художник Л. А. Яценко.
Технический редактор А. П. Чистякова, Корректоры Т. А. Бравая, Е. А. Гинстлинг и Э. Н. Зинца.
ИБ № 21225

Сдано в набор 25.06.85. Подписано к печати 21.11.85. М-25393. Формат 70×108¹/₁₆. Бумага для глубокой печати. Гарнитура литературная. Фотонабор. Печать офсетная. Усл. печ. л. 16,80. Усл. кр.-отт. 17,15. Уч.-изд. л. 19,11. Тираж 1400. Тип. зак. № 559. Цена 3 р.

Ордена Трудового Красного Знамени издательство «Наука», Ленинградское отделение.
199164, Ленинград, В-164, Менделеевская линия, 1.

Ордена Трудового Красного Знамени Первая типография издательства «Наука».
199034, Ленинград, В-34, 9 линия, 12.

Исправления

<i>Страница</i>	<i>Строка</i>	<i>Напечатано</i>	<i>Должно быть</i>
66	6 сверху	(табл. III).	(табл. IV).
78	24 »	(табл. XVII, <i>a—c</i>).	(табл. XVII, <i>B</i> , <i>a—c</i>).

Зак. № 559 Зыбина

Зр.



ИЗДАТЕЛЬСТВО „НАУКА“
Ленинградское отделение

