

И. А. СУЕТИНА, Г. Г. КРУГЛИКОВ

**ЦИТОСПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ
И АВТОРАДИОГРАФИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ДНК
В СЕКРЕТОРНЫХ КЛЕТКАХ МОЛОЧНЫХ ЖЕЛЕЗ**

(Представлено академиком Б. Л. Астауровым 16 IX 1969)

Процессы, связанные с физиологической регенерацией секреторного эпителия молочных желез во время беременности, и особенно в период лактации и инволюции желез, остаются до сих пор недостаточно выясненными, несмотря на большое количество работ, посвященных этому вопросу.

Показано, что митотическое деление железистых клеток идет во время беременности и в первые дни лактации, а в дальнейшем не наблюдается (1-6).

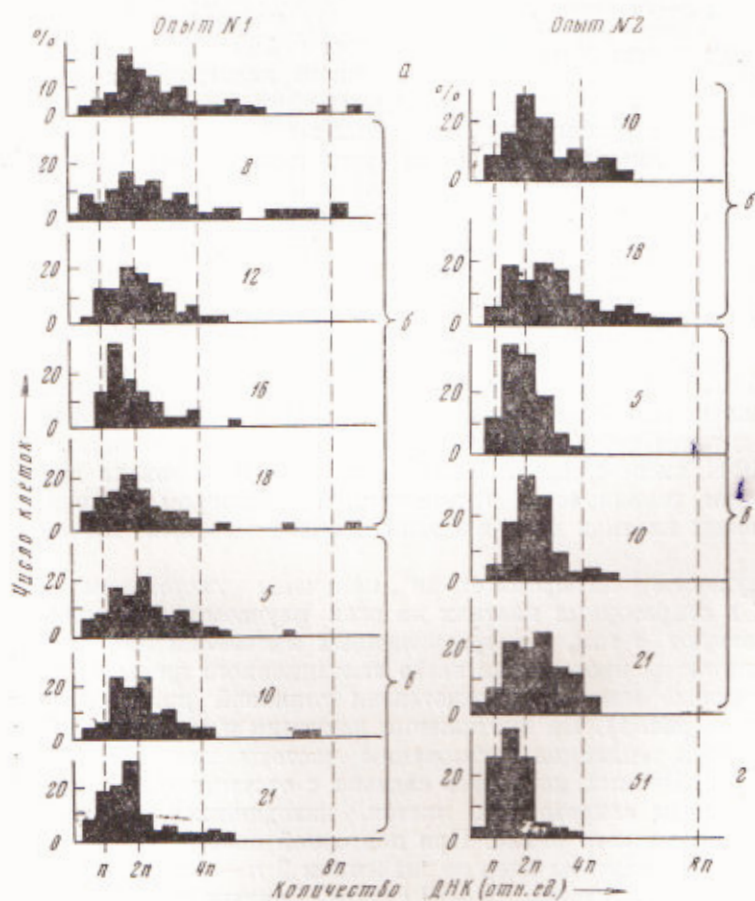


Рис. 1. Гистограммы количества ДНК в отдельных ядрах секреторных клеток молочной железы. а — эструс, б — беременность, в — лактация, г — после родов. Цифрой указан день данного периода

В биохимических исследованиях ДНК молочных желез установлено повышение содержания ДНК к моменту разгара лактации (7-14). Эти данные говорят об увеличении числа клеток (ядер) на единицу массы железистой ткани (13). Не исключена также возможность увеличения концентрации ДНК в ткани и за счет неэпителиальных элементов (соединительная ткань, лейкоциты и пр.), а также полиплоидизации секреторных клеток и появления многоядерных форм. Однако увеличение железистой массы к разгара лактации у крыс не может быть объяснено появлением небольшого

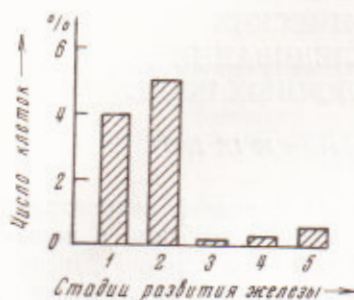


Рис. 2. Индекс метки эпителия молочной железы. 1 — интактная молочная железа; 2 — 12 суток беременности; 3 — 10 суток лактации; 4 — 26 суток после родов; 5 — 31 сутки после родов

числа многоядерных (двуядерных) клеток (5). В имеющихся цитостектофотометрических работах явление полиплоидизации в нормальных железистых клетках не изучалось (15-17).

Задачей настоящего исследования был анализ возможного значения феномена полиплоидизации секреторных клеток молочной железы на всех фазах лактационного цикла. С этой целью в железистых клетках до беременности и в различные периоды лактационного цикла определяли количество ДНК (цитоспектрофотометрически) и ее синтез (авторадиографически).

В работе использовали белых крыс — самок весом 200—250 г для цитофотометрического исследования и половозрелых белых мышей — самок для авторадио-

графии. Ткань молочных правых паховых желез изучали на 8; 10; 12; 16; 18 сутки беременности, на 5; 10; 21 сутки лактации, на 26; 31; 51 сутки инволюции, а также у интактных животных. Цитофотометрическое определение ДНК для большей достоверности повторили еще раз, включив ряд дополнительных сроков наблюдения. Обработку материала по цитофотометрии ДНК проводили общепринятым способом, оптическую плотность ДНК-фуксина определяли на однолучевом зондовом спектрофотометре (18). Цитофотометрии подвергались преимущественно одноядерные клетки (5). Всего было профотометрировано 1500 ядер. H^3 -тимидин в дозе 2,5 μC на 1 г веса животного вводили на 1 час внутривенно. Ткань молочной железы фиксировали в 10% нейтральном формалине и заливали в парафин. Срезы покрывали ядерной фотозумульсией типа «Р» НИКФИ, экспонировали 30 дней при 4° и окрашивали гематоксилином Караччи, гемалауном, подкисленным раствором азур II-эозина. В железистых клетках подсчитывали процент меченых клеток (индекс метки).

В результате цитофотометрии получены гистограммы содержания ДНК в секреторных клетках на всех изучаемых стадиях, которые свидетельствуют о том, что существенных изменений плоидности исследуемых клеток на протяжении всего лактационного цикла не наблюдается. Секреторный эпителий представлен типичной диплоидной популяцией клеток (рис. 1). На протяжении лактации и последующей инволюции отмечается тенденция к снижению частоты клеток с плоидностью от 2n до 4n. Видимо, последнее связано с отсутствием на этих стадиях развития железы секреторных клеток, находящихся в синтетическом периоде митотического цикла. При повторной постановке данного эксперимента падение частоты ядер со значением 2n — 4n наблюдалось в более ранние сроки лактации (5—10 суток). Связано это с более быстрым наступлением инволюции, поскольку в помете было меньшее число крысят.

Авторадиографическое исследование существенно дополняет и под-

тверждает данные, полученные при цитофотометрическом изучении содержания ДНК в ядрах секреторных клеток. Анализ гистограммы, отражающей процент секреторных клеток, синтезирующих ДНК в процессе митотического цикла, также показывает резкое снижение их в разгар лактации и последующей инволюции молочной железы (рис. 2). Увеличение же количества ДНК в период лактации, определяемое биохимическими методами (⁷⁻¹⁴), видимо, связано с интенсивной васкуляризацией железы.

Таким образом, проведенное исследование показало, что секреторные клетки молочных желез на протяжении всего лактационного цикла являются диплоидными. В секреторных клетках интактных молочных желез, а также в периоды беременности, лактации и инволюции процесса полиплоидизации не наблюдается.

Институт биологии развития
Академии наук СССР
Москва

Поступило
13 VIII 1969

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ G. Bizzozzero, G. Vassale, *Virch. Arch.*, **110**, 155 (1887). ² E. Fekete, *Am. J. Pathol.*, **14**, 557 (1938). ³ А. Д. Альтман, *Бюлл. эксп. биол. и мед.*, **20**, 4—5, № 10—11, 47 (1945). ⁴ И. В. Маркелова, *Бюлл. эксп. биол. и мед.*, **54**, 12, 84 (1962). ⁵ С. С. Лагучев, *Молочные железы*, 1966, В кн. *Клеточное обновление*, 1966, стр. 62. ⁶ Н. Н. Traurig, *The Anatomical Record*, **157**, 3, 489 (1967). ⁷ A. L. Greendaum, T. F. Siater, *Biochem. J.*, **66**, 1, 155 (1957). ⁸ Н. Shimizu, *Tohoku J. Agric. Res.*, **7**, 339 (1957). ⁹ H. C. Damm, C. W. Turner, *Proc. Soc. Exp. Biol.*, **107**, 4, 893 (1961). ¹⁰ D. R. Griffith, C. W. Turner, *Proc. Soc. Exp. Biol.*, **106**, 2, 448 (1961). ¹¹ R. C. Moon, *Am. J. Physiol.*, **203**, 5, 939 (1962). ¹² H. A. Tucker, R. P. Reese, *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, **112**, 3, 688 (1963). ¹³ R. E. Munford, *Dairy Sci. Abstr.*, **26** (7), 293 (1964). ¹⁴ H. Nagassawa, H. Iwahashi et al., *Endocrinol. Japon.*, **14**, 1, 23 (1967). ¹⁵ Invi Naomichi, *Gann*, **58**, 297 (1967). ¹⁶ U. A. Sod-Moriach, G. U. Schmidt, *Experimental Cell Research*, **49**, 3, 584 (1968). ¹⁷ К. П. Ганина, К. А. Гудим-Левкович и др., *Цитология*, **10**, 18, 981 (1968). ¹⁸ В. Я. Бродский, *Трофика клетки*, М., 1966, стр. 196, 215, 234.