

ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕПОЛИПЛОИДИЗАЦИИ И ДЕПОЛИТЕНИЗАЦИИ С ПРИМЕНЕНИЕМ ЦИТОФОТОМЕТРИИ ДНК ГЕТЕРОХРОМАТИЗИРОВАННЫХ ТЕЛЕЦ ГОНОСОМАЛЬНОГО ХРОМАТИНА ВО ВТОРИЧНЫХ ГИГАНТСКИХ КЛЕТКАХ ТРОФОБЛАСТА ПОЛЕВКИ *MICROTUS ROSSIAEMERIDIONALIS*

© Е. В. Зыбина, М. С. Богданова, Т. Г. Зыбина, Г. И. Штейн

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург; электронный адрес: zybina@mail.cytspb.rssi.ru

Исследовано распределение материала телец гоносомального хроматина (ТГХ), образованного гетерохроматизированными участками половых хромосом, при разделении ядер вторичных гигантских клеток трофобласта полевки с образованием поликариоцитов в терминальный период их дифференцировки. С помощью одновременного цитофотометрического определения содержания ДНК в ядерных фрагментах и в ТГХ показано, что в ходе фрагментации содержание ДНК в ТГХ уменьшается, причем это уменьшение близко к пропорциональному содержанию ДНК в ядерных фрагментах. Последнее соответствует уровням плоидности 2с, 4с и 8с. В ядерные фрагменты разного уровня плоидности в большинстве случаев попадают 1—2 ТГХ. Суммарное содержание ДНК в ТГХ ядерных фрагментов, а также в отдельных ТГХ обнаруживает тесную корреляцию с плоидностью ядерных фрагментов. Полученные данные свидетельствуют о регулярном (погеномном) распределении хромосомного материала в ядерные фрагменты на примере распределения половых хромосом. Обсуждается возможный механизм фрагментации ядра, обеспечивающий, по-видимому, значительную степень сбалансированности генома ядерных фрагментов, который не связан, однако, с возобновлением митотических циклов в популяции гигантских клеток трофобласта.

Ключевые слова: гетерохроматин, половые хромосомы, эндоредупликация, деполиплоидизация, фрагментация ядер, трофобласт, млекопитающие.

Принятые сокращения: ТГХ — тельца гоносомального хроматина, ВГКТ — вторичные гигантские клетки трофобласта.

У млекопитающих известны многочисленные случаи умножения генома при дифференцировке целого ряда тканей, которая обычно протекает необратимо (Бродский, Урываева, 1981; Brodsky, Uryvaeva, 1985). Особым случаем являются клетки трофобласта в плаценте млекопитающих, у которых после серии раундов умножения генома следует процесс деполиплоидизации путем разделения исходного ядра на фрагменты (Зыбина и др., 1979; Зыбина, 1986). При этом показано, что распределение хромосомного материала имеет тенденцию к погеномному (Зыбина и др., 1979; Зыбина, 1990). Двухядерные и многоядерные клетки трофобласта встречаются в плацентах ряда млекопитающих (Hoffman, Wooding, 1994), но механизмы их образования исследованы мало. Поэтому представляет интерес изучение распределения хромосомного материала при разделении исходного гигантского ядра в клетках трофобласта у восточноевропейской полевки *Microtus rossiaemeridionalis*, ядра клеток которой содержат крупные тельца конденсированного гоносомального хроматина, образованного в значительной степени гетерохроматином половых хромосом (Mazurok et al., 2001; Zyбина et al., 2003). Тельца гоносомального хроматина (ТГХ) могут представлять собой естественный хромосомный маркер интерфазного ядра, использование которого поможет проследить распределе-

ние отдельных хромосом в ходе деполиплоидизации гигантских клеток трофобласта. Такое исследование, вероятно, даст возможность получить сведения о том, в какой степени обеспечивается сбалансированность генома ядерных фрагментов в образующихся поликариоцитах.

Целью настоящей работы было исследование закономерностей распределения материала половых хромосом путем цитофотометрического определения содержания ДНК в ядерных фрагментах и одновременно в ТГХ при фрагментации вторичных гигантских клеток трофобласта восточноевропейской полевки.

Материал и методика

Кусочки плаценты восточноевропейской полевки на 10, 12 и 14-е сут развития фиксировали смесью этилового спирта и ледяной уксусной кислоты в соотношении 3 : 1. Использован материал плацент 3 эмбрионов на 10-е, 3 эмбрионов на 12-е и 2 эмбрионов на 14-е сут развития. Часть фиксированного материала заливали в парафин и готовили срезы толщиной 10 мкм; срезы обрабатывали по Фельгену. Из другой части материала готовили постоянные давленные препараты в соответствии с ранее описанной методикой (Zyбина et al., 2003). При обработке по

Фёльгену проводили гидролиз при комнатной температуре в 5 н. HCl в течение 30 мин и инкубировали в реактиве Шиффа в течение 2 ч в темноте. После этого препараты инкубировали в двух порциях 0.5%-ного раствора $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ в 0.05 н. HCl дважды по 20 мин, отмывали в проточной воде, дегидратировали в серии спиртов восходящей концентрации (50—100 %) и заключали в канадский бальзам.

Содержание ДНК в ядрах и ТГХ клеток трофобласта восточноевропейской полевки определяли на постоянных давленных препаратах и на срезах, обработанных по Фёльгену. Интегральную оптическую плотность ядер и ТГХ измеряли на анализаторе изображений «Видеотест», состоящем из цифровой ПЗС-видеокамеры СРТ 8360 (Chirper, США), установленной на микроскоп ЕС Бимам-13, и компьютера IBM PC. Ввод изображения и измерение интегральной оптической плотности, характеризующей содержание ДНК в ядре и отдельно в ТГХ, проводили с помощью программы Видеотест-Морфо («Видеотест», Санкт-Петербург), на которой ранее была показана возможность измерения содержания ДНК (Штейн и др., 1998). При измерениях использовали объектив 40×0.65 и интерференционный фильтр 550 нм. В каждой плаценте было проанализировано от 150 до 400 ядерных фрагментов вторичных гигантских клеток трофобласта и 100 ядер фетальных эритроцитов в качестве контроля содержания ДНК в диплоидном ядре. При обработке результатов рассматривали следующие параметры: содержание ДНК в ядре в условных единицах (усл. ед.) и плоидность (c), а также содержание ДНК в ТГХ в усл. ед. (в отдельных тельцах и суммарно для ядер с 2—5 ТГХ), число ТГХ, доля ядер с одним и несколькими ТГХ. По этим данным вычисляли среднее со стандартной ошибкой, а также коэффициент корреляции (r) между различными параметрами.

Результаты и обсуждение

Вторичные гигантские клетки трофобласта (ВГКТ) в плаценте полевки располагаются как на границе между зародышевой и материнской зонами плаценты, так и в глубине ее зародышевой части. Они сохраняются до конца беременности, но во многих из них ядра распадаются на значительно более мелкие фрагменты. В ядрах ВГКТ выявляются политенные хромосомы, которые имеют вид коротких рыхлых пучков, прилегающих к ядерной оболочке и ядрышку, имеющему обычно овальную или лопастную форму (Зыбина, 1986; Zybina et al., 2003).

Начиная с 10-х сут развития зародыша в части клеток происходят процессы распада гигантских ядер на многочисленные фрагменты (рис. 1, 2); к 14—17-м сут эти процессы захватывают значительную часть ядер вторичных гигантских клеток трофобласта, хотя к концу беременности сохраняется довольно много одноядерных гигантских клеток. При фрагментации происходит либо постепенное отпочковывание от ядра в цитоплазму отдельных фрагментов, либо обособление их внутри исходного ядра, вследствие чего скопление ядерных фрагментов вначале сохраняет форму ядра (рис. 1, 2).

Особенностью гигантских клеток трофобласта полевки является распадение пучков политенных хромосом на множество эндохромосом в ходе дифференцировки. При этом ТГХ преимущественно сохраняют свою целостность в виде 1—2 крупных телец конденсированного

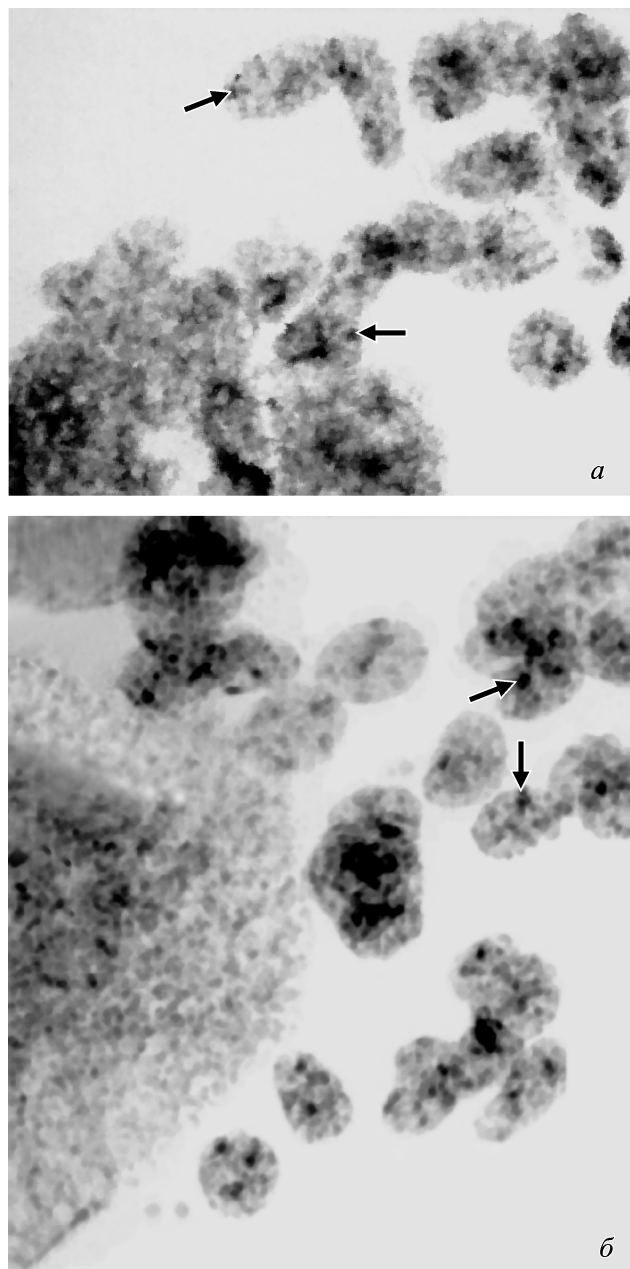


Рис. 1. Разделение ядер ВГКТ восточноевропейской полевки на низкополиплоидные ядерные фрагменты на 10-е сут эмбрионального развития.

a, б — процесс отпочковывания ядерных фрагментов от поверхности гигантского ядра; в ядерных фрагментах присутствует одно или несколько мелких ТГХ (стрелки). Постоянный давленный препарат, обработанный по Фёльгену. Об. 100 \times , ок. 15 \times .

Fig. 1. Nuclear fragmentation in the secondary giant trophoblast cells of the *Microtus rossiameridionalis* into low-polyloid nuclear fragments on the 10th day of gestation.

a, б — separation of nuclear fragments from the surface of the giant nucleus; one or few small gonosomal chromatin bodies are observed in the fragments (arrows). Feulgen-stained squash. Ob. 100 \times , oc. 15 \times .

хроматина (рис. 3, *a*), размеры которых сопоставимы с размерами пучков политенных хромосом (Зыбина и др., 2002; Zybina et al., 2003).

При большом увеличении можно наблюдать, что после распада большинства политенных хромосом на

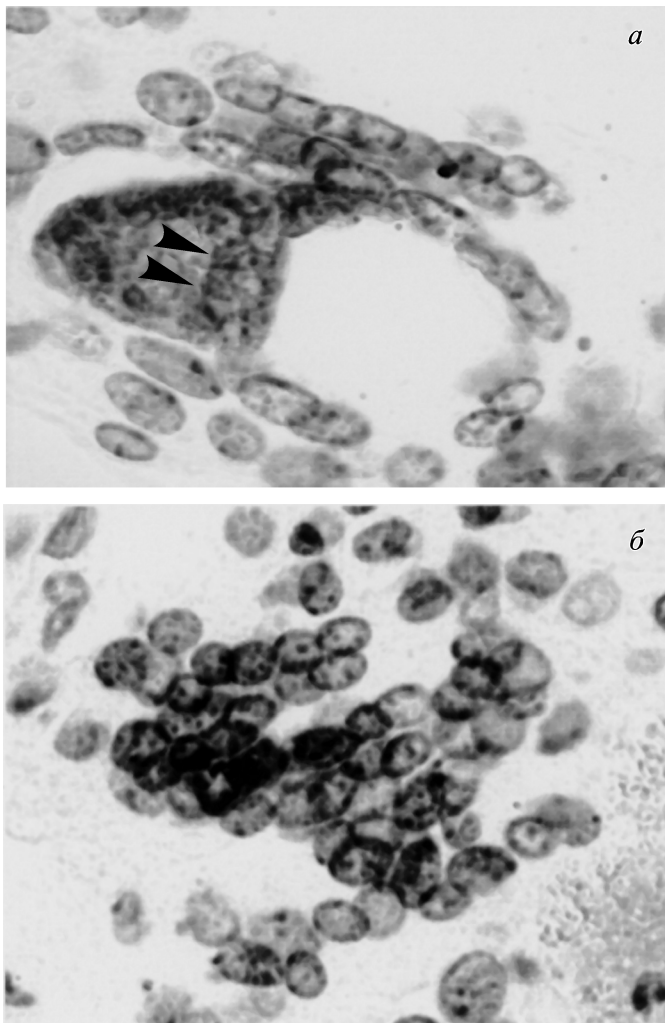


Рис. 2. Обособление ядерных фрагментов внутри исходного ядра ВГКТ восточноевропейской полевки в процессе фрагментации на 12-е сут эмбрионального развития.

a — участок исходного ядра с обособляющимися фрагментами (головки стрелок) и отделившиеся ядерные фрагменты; *b* — компактное скопление ядерных фрагментов внутри гигантской клетки трофобласта; в ядерных фрагментах присутствуют одно-два ТГХ. Срез, обработка по Фельгену. Об. 100×, ок. 10×.

Fig. 2. Isolation of nuclear fragments inside the initial nucleus of the secondary giant trophoblast cells of *Microtus rossiaemeridionalis* on the 12th day of gestation.

a — part of the initial nucleus with progressively isolating and pinching off fragments (arrowheads); *b* — a compact cluster of nuclear fragments inside a giant trophoblast cell; 1—2 gonosomal chromatin bodies are observed in the nuclear fragments. Feulgen-stained section. Ob. 100×, oc. 10×.

эндохромосомы крупные ТГХ в свою очередь состоят из более мелких конденсированных телец, которые хорошо выявляются на периферии ТГХ (рис. 3, б).

Согласно данным цитофотометрии, содержание ДНК в ядерных фрагментах соответствует уровням плоидности 2с, 4с и 8с. Такое распределение содержания ДНК выявляется как на давленных препаратах (рис. 4), так и на срезах (рис. 5). Эти данные вполне согласуются с ранее полученными результатами, свидетельствующими о тенденции к погеномному распределению хромосомного материала гигантских клеток трофобласта по ядерным фрагментам (Зыбина и др., 1979; Зыбина, 1990).

Оказалось, что при разделении гигантского ядра на фрагменты в каждый ядерный фрагмент попадают преимущественно 1—2 ТГХ, реже более (табл. 1).

Одновременное цитофотометрическое определение содержания ДНК в ядерных фрагментах и содержащихся в них ТГХ показало, что по мере фрагментации суммарное содержание ДНК в ТГХ уменьшается, причем это уменьшение близко к пропорциональному уровню плоидности ядерных фрагментов (табл. 2). В случае присутствия в ядерных фрагментах 2 ТГХ и более содержание ДНК в отдельных ТГХ (наиболее крупном и втором по величине) оказалось также пропорциональным уровню плоидности ядерных фрагментов (рис. 6; табл. 2). Сход-

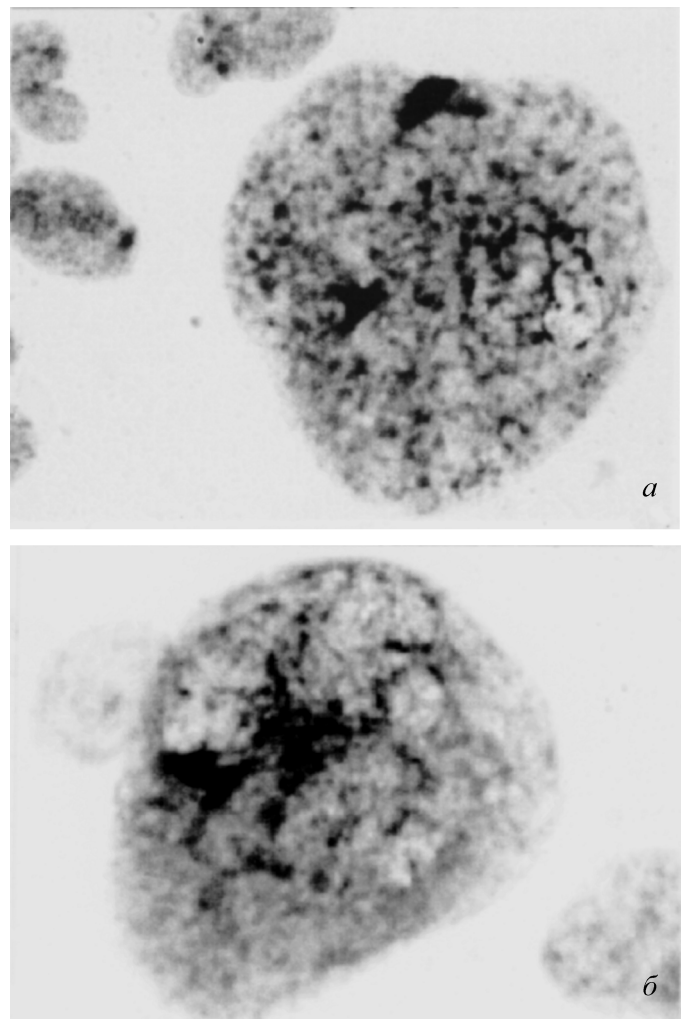


Рис. 3. ТГХ в ВГКТ восточноевропейской полевки на 14-е сут эмбрионального развития.

a — в ядре выявляются два крупных компактных ТГХ и множество эндохромосом; *b* — в ядре присутствуют два крупных ТГХ, одно из которых компактное, тогда как другое распадается на множество более мелких парных конденсированных эндохромосом. Постоянный давленный препарат, обработка по Фельгену. Об. 100×, ок. 15×.

Fig. 3. Gonosomal chromatin bodies in the secondary giant trophoblast cells of *Microtus rossiaemeridionalis* on the 14th day of gestation.

a — two large compact gonosomal chromatin bodies and numerous endochromosomes are observed in the nucleus; *b* — two gonosomal chromatin bodies are observed in the nucleus, one being compact, the other breaking down into a multitude of small double condensed endochromosomes. Feulgen-stained squash. Ob. 100×, oc. 15×.

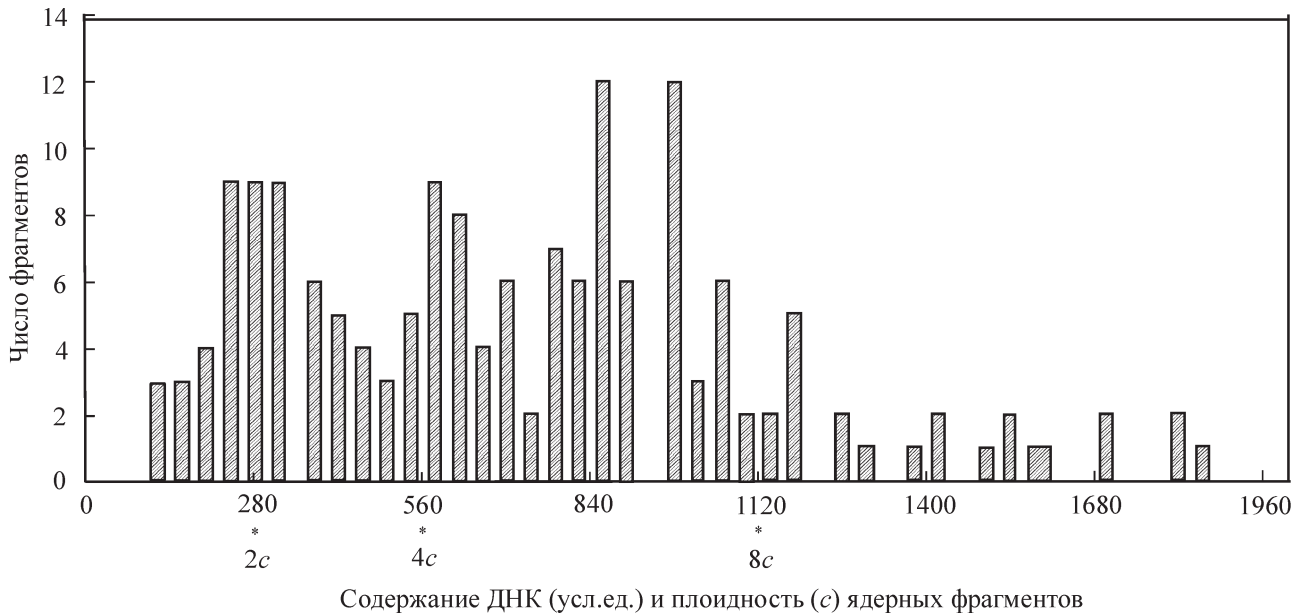


Рис. 4. Распределение содержания ДНК в ядерных фрагментах ВГКТ восточноевропейской полевки на 10-е сут эмбрионального развития по данным, полученным на давленных препаратах.
Звездочкой обозначены уровни ploидности.

Fig. 4. Distribution of DNA content in the nuclear fragments of the secondary giant trophoblast cells of *Microtus rossiaemeridionalis* on the 10th day of gestation (data obtained on squashes).
Abcissa — DNA content, arbitrary units and ploidy, c; ordinate — the number of nuclear fragments.

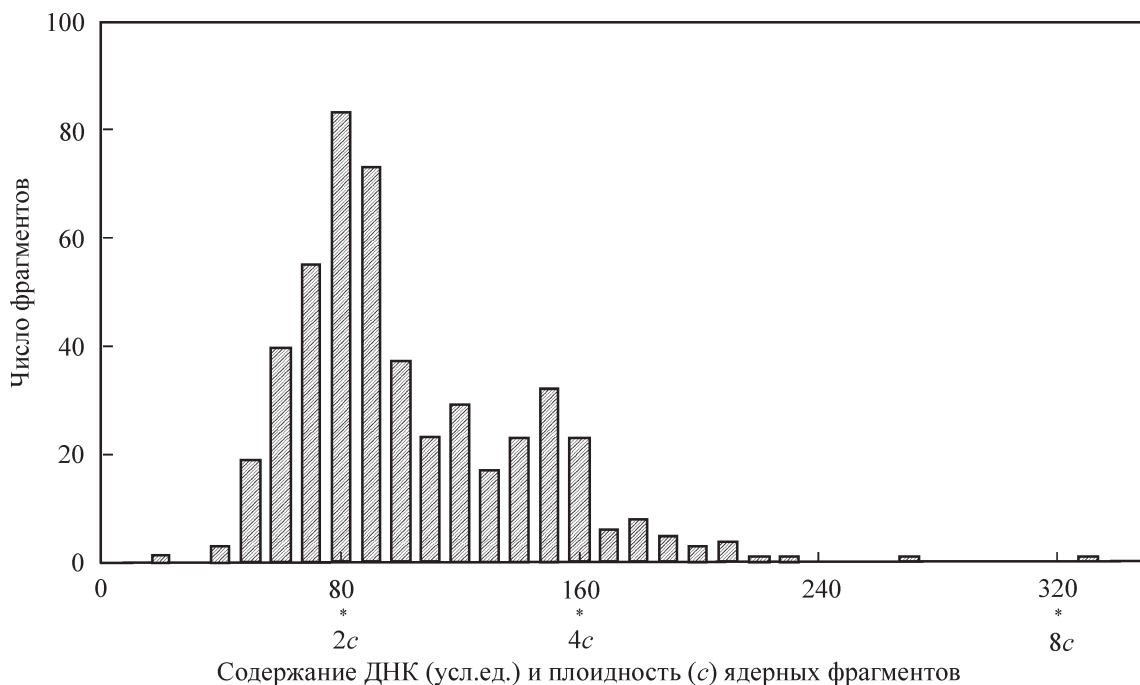


Рис. 5. Распределение содержания ДНК в ядерных фрагментах ВГКТ восточноевропейской полевки на 12-е сут эмбрионального развития по данным, полученным на срезах.
Звездочкой обозначены уровни ploидности.

Fig. 5. Distribution of DNA content in nuclear fragments of the secondary giant trophoblast cells of *Microtus rossiaemeridionalis* on the 12th day of gestation (data obtained on sections).
Abcissa — DNA content, arbitrary units and ploidy, c; ordinate — number of nuclear fragments.

Таблица 1

Доля ядерных фрагментов с различным числом ТГХ в зависимости от степени их плоидности во вторичных гигантских клетках трофобласта полевки (по данным анализа, проведенного на давленных препаратах)

| Степень плоидности, c | Доля (% $\bar{x} \pm s_x$) ядерных фрагментов с разным числом ТГХ | | | | |
|-------------------------|--|----------------|----------------|----------------|---------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 2 | 48.8 \pm 7.8 | 51.2 \pm 7.8 | 0 | 0 | 0 |
| 4 | 33.3 \pm 6.1 | 54.4 \pm 6.7 | 3.5 \pm 2.2 | 3.5 \pm 2.2 | 5.2 \pm 2.2 |
| 8 | 7.0 \pm 3.2 | 70.0 \pm 6.0 | 10.5 \pm 4.0 | 10.5 \pm 4.0 | 1.8 \pm 1.6 |

ные данные были получены также при измерении содержания ДНК в ядерных фрагментах и ТГХ на срезах (рис. 7).

Наблюдается высокий уровень корреляции между содержанием ДНК в ядре и ТГХ. При этом корреляция выявляется как между суммарным содержанием ДНК в ТГХ и ядерном фрагменте ($r = 0.83$), так и между содержанием ДНК в отдельных ТГХ и ядерном фрагменте (табл. 3). Эти данные свидетельствуют о том, что распределение материала половых хромосом в ядерные фрагменты происходит не случайно, а в соответствии с уровнем плоидности формирующихся фрагментов.

Следует отметить, что данные, полученные на срезах, сходны с таковыми, полученными на давленных пре-

паратах. Однако коэффициенты корреляции между содержанием ДНК в ТГХ и ядерных фрагментах, полученные на срезах, несколько ниже таковых, полученных на давленных препаратах (табл. 3). Так, между суммарным содержанием ДНК в ТГХ и целых фрагментах наблюдается достаточно высокая корреляция ($r = 0.59$). Между содержанием ДНК во фрагментах и отдельных ТГХ наблюдается средняя корреляция ($r = 0.54$). Различия между данными, полученными на давленных препаратах, и на срезах, вероятно, обусловлены измерением в ряде случаев не целого фрагмента, а его части, оказавшейся внутри среза. Однако на основании полученных данных можно заключить, что содержание ДНК, определяемое на срезах, может в известной степени служить

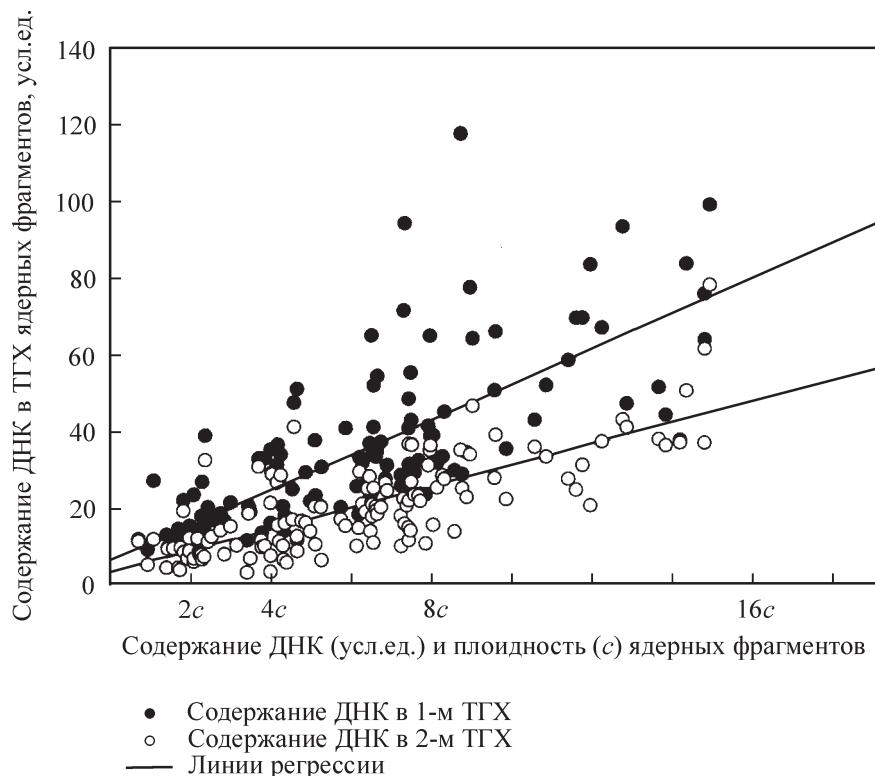


Рис. 6. Соотношение между уровнем плоидности ядерных фрагментов и содержанием ДНК в ТГХ с наибольшим содержанием ДНК (1-е ТГХ) и во втором по содержанию ДНК ТГХ (2-е ТГХ) в ядерных фрагментах вторичных гигантских клеток трофобласта восточноевропейской полевки на 10-е сут эмбрионального развития по данным, полученным на давленных препаратах.

Fig. 6. Relationship between the ploidy level of nuclear fragments and DNA content in the first (black circles) and second (white circles) gonosomal chromatin bodies, according to their DNA content, in the secondary giant trophoblast cells of *Microtus rossiaemeridionalis* on the 10th day of gestation (data obtained on squashes).

Abscissa — DNA content, arbitrary units and ploidy, c ; ordinate — DNA content in gonosomal chromatin bodies.

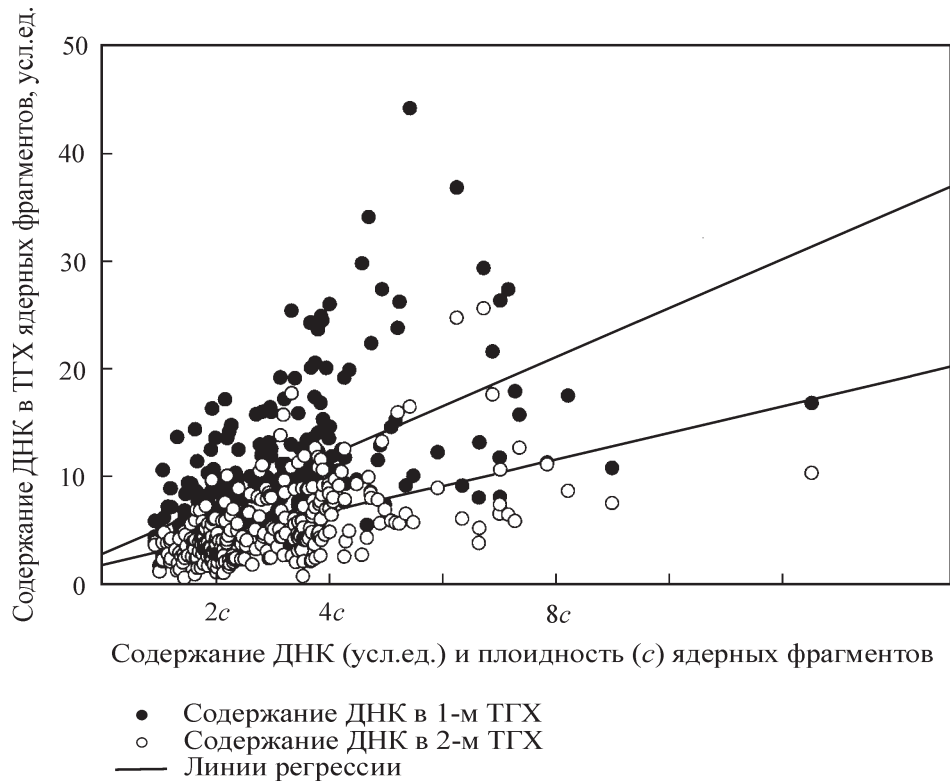


Рис. 7. Соотношение между уровнем плоидности ядерных фрагментов и содержанием ДНК в ТГХ с наибольшим содержанием ДНК (1-е ТГХ) и во втором по содержанию ДНК ТГХ (2-е ТГХ) в ядерных фрагментах вторичных гигантских клеток трофобласта восточноевропейской полевки на 12-е сут эмбрионального развития по данным, полученным на срезах.

Fig. 7. Relationship between the ploidy level of nuclear fragments and DNA content in the first (black circles) and second (white circles) gonosomal chromatin bodies, with regard to their DNA content in the secondary giant trophoblast cells of *Microtus rossiaemeridionalis* on the 12th day of gestation (data obtained on sections).

Abscissa — DNA content, arbitrary units and ploidy, *c*; *ordinate* — DNA content in gonosomal chromatin bodies.

для оценки поведения гетерохроматизированных половых хромосом в ходе полиплоидизации и деполитоидизации.

Можно предположить, что распределению отдельных ТГХ в дочерние фрагменты предшествует постепенная дезагрегация исходного конденсированного (политенного) ТГХ на отдельные эндохромосомы. Однако, согласно данным настоящей работы, число ТГХ не обнаруживает значительной корреляции с уровнем плоидности фрагментов ($r = 0.31$). На всех уровнях плоидности фрагменты содержат преимущественно 2 ТГХ (табл. 1). При этом содержание ДНК в отдельных ТГХ пропорционально уровням плоидности ядерных фрагментов, значительная корреляция наблюдается как в наиболее круп-

ном, так и во втором по величине ТГХ (табл. 2; рис. 3). Эти данные свидетельствуют в пользу сохранения высокой степени присоединения сестринских хроматид гетерохроматизированных половых хромосом вплоть до момента их разделения на фрагменты более низкой степени плоидности. Благодаря этому диссоциация политенных ТГХ на олиготенные происходит, по-видимому, преимущественно в ходе разделения исходных ядер на фрагменты, и в каждый фрагмент попадают 1—2 ТГХ, количест-

Таблица 3

Коэффициенты корреляции между содержанием ДНК в ядерных фрагментах и находящихся в них ТГХ во вторичных гигантских клетках трофобласта полевки (по данным, полученным на давленных препаратах и на срезах)

| Способ приготовления препаратов | Корреляция (r) между содержанием ДНК в ядерном фрагменте и содержанием ДНК в ТГХ, $\bar{x} \pm s_x$ | | |
|---------------------------------|---|----------------------------------|------------------------------|
| | суммарным содержанием ДНК в ТГХ | ТГХ с наибольшим содержанием ДНК | вторым по содержанию ДНК ТГХ |
| Давленные препараты | 0.83 ± 0.02 | 0.74 ± 0.04 | 0.77 ± 0.03 |
| Срезы | 0.59 ± 0.02 | 0.54 ± 0.03 | 0.54 ± 0.03 |

Таблица 2

Содержание ДНК в ТГХ ядерных фрагментов (усл. ед., $\bar{x} \pm s_x$) разного уровня плоидности при измерении на давленных препаратах

| Среднее содержание ДНК в ТГХ | Уровень плоидности ядерных фрагментов, c | | |
|------------------------------|--|--------------|--------------|
| | 2 | 4 | 8 |
| Суммарное | 25.80 ± 0.06 | 40.90 ± 0.09 | 67.80 ± 0.13 |
| 1-е ТГХ | 15.7 ± 1.0 | 30.1 ± 1.7 | 47.9 ± 2.4 |
| 2-е ТГХ | 10.6 ± 1.0 | 16.4 ± 1.4 | 25.5 ± 1.2 |

во сестринских хроматид в которых пропорционально уровню пloidности фрагментов.

Вместе с тем обращает на себя внимание то, что в полиплоидных фрагментах встречаемость 2 ТГХ несколько выше, чем в диплоидных. Кроме того, среди полиплоидных фрагментов обнаруживается также небольшое число фрагментов с 3 ТГХ и более. Эти данные указывают на то, что во фрагментирующихся ядрах существует возможность частичной дезагрегации единого крупного ТГХ перед последующим распределением его материала в ядерные фрагменты.

Данные настоящей работы свидетельствуют о том, что отдельные хромосомы распределяются в ядерные фрагменты не случайно, и это обеспечивает, по-видимому, погеномный характер разделения высокоплоидного ядра. Механизм перераспределения хромосомного материала, обеспечивающий сбалансированность генома ядерных фрагментов, пока неясен. Некоторые данные указывают на активную роль ядерной оболочки и, вероятно, связанных с ней структур в осуществлении фрагментации гигантских ядер. Этому процессу предшествует появление складчатости ядерной оболочки гигантских клеток трофобласта. Образование глубоких инвагинаций двойной ядерной мембраны приводит к поэтапной компартиментализации ядра и отделению от него фрагментов (Зыбина, 1986). В этот период в цитоплазме исходной гигантской клетки наблюдается присоединение к ядерной мембране массивных пучков промежуточных филаментов, одним концом связанных с мембраной формирующегося фрагмента, другим — с мембранами агранулярной эндоплазматической сети (Зыбина, Румянцев, 1980). Активная роль элементов цитоскелета, в частности микротрубочек и микрофиламентов, в разделении ядра описана при фрагментации ядер клеток надпочечников лягушки (Pehlemann, 1968). Некоторые авторы предполагают, что промежуточные филаменты в гигантских клетках трофобласта функционально аналогичны отсутствующим в них центриолям. Отмечается, что гигантские клетки трофобласта не имеют центриолярного аппарата, но содержат центросомоподобные тельца, составленные промежуточными филаментами (Glasser, 1984). Не исключено, что промежуточные филаменты, входящие в состав центросомоподобных телец, играют определенную роль в правильном разделении ядра, не связанном, однако, с механизмом митоза.

Следует отметить, что ТГХ, как и тельца Барра, часто ассоциированы с ядерной оболочкой, и эта связь четко выявляется и при фрагментации. Вполне вероятно, что разделение политенных ТГХ на ТГХ меньшего уровня пloidности осуществляется при участии ядерной оболочки.

Необходимо подчеркнуть, что фрагментация ядер ВГКТ полевок, как и у других изученных видов грызунов, наблюдается в терминальный период их дифференцировки, когда процессы репликации в них прекращаются (Зыбина, Зыбина, 1996). Разделение гигантского ядра осуществляется без включения механизма митоза. Поэтому процессы фрагментации ядер гигантских клеток трофобласта не приводят к возобновлению митотиче-

ских циклов в этой популяции клеток трофобласта. Однако механизмы регулярного перераспределения хромосомного материала в этом процессе пока еще требуют дальнейшего изучения.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 01-04-49839).

Список литературы

- Бродский В. Я., Урываева И. В. 1981. Клеточная полиплоидия. Пролiferация и дифференцировка. М.: Наука. 259 с.
- Зыбина Е. В. 1986. Цитология трофобласта. Л.: Наука. 192 с.
- Зыбина Е. В., Кудрявцева М. В., Кудрявцев Б. Н. 1979. Распределение хромосомного материала при делении гигантских ядер путем фрагментации в трофобласте грызунов. Морфологическое и цитометрическое исследование. Цитология. 21 (1) : 12—20.
- Зыбина Е. В., Румянцев П. П. 1980. Образование сложной системы плазматических мембран и пучков микрофиламентов в период завершения фрагментации ядер гигантских поликардиоцитов трофобласта. Цитология. 22 (8) : 890—899.
- Зыбина Т. Г. 1990. Содержание ДНК в ядерных фрагментах, возникающих при фрагментации вторичных гигантских клеток трофобласта серой полевки. Цитология. 32 (8) : 806—810.
- Зыбина Т. Г., Зыбина Е. В., Богданова М. С., Штейн Г. И. 2002. Количественное исследование репродукции конденсированного хроматина половых хромосом при полиплоидизации и эндоредупликации клеток восточноевропейской полевки *Microtus rossiaemerdionalis*. Цитология. 44 : (8) : 786—779.
- Штейн Г. И., Пантелеев В. Г., Поваркова А. В., Кудрявцев Б. Н. 1998. Возможности анализатора изображений «Видеотест» для проведения микрофотометрических исследований в цитологии. Цитология. 40 (10) : 913—916.
- Brodsky V. Ja., Uryvaeva I. V. 1985. Genome multiplication in growth and development. Cambridge: Univ. Press. 350 p.
- Glasser S. R., Soares M. J., Julian J. 1984. Morphological and functional differentiation of rat trophoblast *in vitro*: organization of microtubules, expression of cytokeratins and rat placental lactogen in midgestation trophoblast giant cells. Abstr. of the Int. Symp. Mammal. Reprod. Earl. Develop. Tokyo.
- Hoffmann L. H., Wooding F. P. 1994. Giant and binucleate trophoblast cells in mammals. J. Exp. Zool. 266 : 559—577.
- Mazurok N. A., Rubtsova N. V., Isaenko A. A., Pavlova M. E., Slobodyanyuk S. Y., Nesterova J. B., Zakian S. M. 2001. Comparative chromosome and mitochondrial DNA analyses and phylogenetic relationships within common voles (*Microtus*, *Arvicolidae*). Chromosome Res. 9 : 107—120.
- Pehlemann F.-W. 1968. Die amitotische Zellteilung. Eine elektronenmikroskopische Untersuchung an Interrenalzellen von *Rana temporaria*. Ztschr. Zellforsch. mikrosk. Anat. 84 : 516—548.
- Zybina E. V., Zybina T. G. 1996. Polytenne chromosomes in mammalian cells. Int. Rev. Cytol. 165 : 53—119.
- Zybina T. G., Zybina E. V., Bogdanova M. S., Stein G. I. 2003. Quantitative investigation of reproductive of gonosomal condensed chromatin during trophoblast cell polyploidization and endoreduplication in east-european field vole *Microtus rossiaemerdionalis*. Reprod. Biol. Endocrinol. 1 : 32 (on line, www.rbej.com).

Поступила 13 IV 2005

A STUDY OF DEPOLYPLDIZATION AND DEPOLYTENIZATION OF SECONDARY
GIANT TROPHOBLAST CELLS OF THE FIELD VOLE *MICROTUS ROSSIAEMERIDIONALIS* BY
CYTOPHOTOMETRIC MEASUREMENT OF THE HETEROCHROMATIZED
GONOSOMAL CHROMATIN BODIES

E. V. Zybina, M. S. Bogdanova, T. G. Zybina, G. I. Stein

Institute of Cytology, RAS, St. Petersburg;
e-mail: zybina@mail.cytspb.rssi.ru

A study was made of the distribution of the heterochromatized gonosomal chromatin bodies (GCB) material in the course of nuclear fragmentation of secondary giant trophoblast cells resulting in polykaryocyte formation at the late stage of their differentiation. A simultaneous DNA cytophotometry in GCBs and nuclear fragments showed a progressive GCB DNA content decrease proportional to that of DNA content in nuclear fragments. DNA contents in the nuclear fragments corresponded to $2c$, $4c$ and $8c$. In most cases 1—2 GCBs were found in the nuclear fragments of different ploidy levels. Both the total DNA content in GCBs and the DNA content in separate GCBs well correlated with the ploidy levels of fragments. The data obtained demonstrate a regular, whole-genome distribution of chromosomal materials into the nuclear fragments exemplified by sex chromosome distribution in compliance with the ploidy of nuclear fragments. We discuss a possible mechanism of nuclear fragmentation that may ensure substantially a balanced genome of nuclear fragments without leading to mitotic cycle renewal in the giant trophoblast cell population.

Key words: heterochromatin, sex chromosomes, endoreduplication, depolyploidization, nuclear fragmentation, trophoblast, mammals.
