

УДК 632.2/3:612.664

## РЕГУЛЯЦИЯ РОСТА И РАЗВИТИЯ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У ЖВАЧНЫХ ЖИВОТНЫХ

В. И. ГЕОРГИЕВСКИЙ, И. К. МЕДВЕДЕВ, В. Н. БУЛАЧЕВ, Г. И. ХРУСТАЛЕВА

(Кафедра физиологии и биохимии с.-х. животных)

Изучалось влияние гормональных факторов на пролиферацию и дифференцировку тканей и клеток молочной железы у телок, козочек и суягных коз методом культивирования тканевых эксплантатов при использовании морфологического и биохимического контроля.

Показано, что в комплекс метаболитических и лактогенных гормонов, необходимых для роста и развития молочной железы девственных животных, должны обязательно входить эстрогены и прогестерон; для беременных животных достаточно сочетания инсулина и гидрокортизона с пролактином и (или) соматотропином.

Установлена важная роль негистоновых белков ядра в активизации клеточного генома. Уровень цАМФ во время пролиферации клеток высок, что свидетельствует о его необходимости для роста молочной железы; после родов и в дифференцированной ткани эксплантата уровень цАМФ снижается. По-видимому, он действует как негативный регуляторный фактор лактогенеза.

Получены данные о роли полиаминов (спермидина, спермина, путресцина) в гормональном контроле лактогенеза у жвачных. Их значение как посредников действия гормонов в культуре ткани обусловлено, вероятно, взаимодействием со сложными органическими анионами.

Генетический потенциал молочной продуктивности животных определяется прежде всего количеством дифференцированных секреторных клеток в молочной железе. Однако в настоящее время недостаточно данных о процессах маммо- и лактогенеза, в результате которых образуются эти клетки. В основе дифференцировки, как известно, лежит развитие способности клеток синтезировать свойственные только им продукты; в частности, для эпителиальных клеток молочной железы таковыми являются казеин, альфа-лактоальбумин, бета-лактоглобулин, лактоза и, возможно, группа низкомолекулярных жирных кислот.

В опытах с культивированием молочной железы мыши показано, что клеточная дифференцировка, заканчивающаяся синтезом казеина, находится под контролирующим влиянием гормонов [2]. Рядом исследований, в частности в опытах с удалением эндокринных желез, установлено, что существуют межвидовые различия по крайней мере в гормональных потребностях для роста, развития и функционирования молочной железы [3]. Так, у кроликов функцию молочной железы можно поддерживать одним только пролактином, у мышей, крыс, морских свинок и собак — не меньше чем двумя гормонами, в то время как жвачным требуются для данной функции несколько гормонов [1, 3].

В этой связи нами исследовались гормональные факторы и закономерности дифференцировки тканей и клеток молочной железы у жвачных животных.

### Методика

В опытах была применена методика органного культивирования молочной железы с комплексами метаболитических и лактогенных гормонов. Для получения молочной железы использовали нормально развитых телок 12—15-месячного возраста, козочек (4—8 мес) и суягных коз в начале (40—50 сут), середине (60—90 сут) и конце (120—140 сут) их первой беременности. Ткань железы (или всю железу) для культивирования получали асептически биопсией или после убоя животных с учетом стадии их полового цикла. Тканевые эксплантаты (1 мм<sup>2</sup>) помещали на

миллиметровые фильтры в инкубационные сосуды, в наружном отсеке которых была питательная среда 199 и тефлоновая платформа с отверстиями. Газовая смесь состояла из кислорода и углекислоты (95:5). Культивирование проводилось в течение 92—140 ч по специально разработанным и испытанным в экспериментах схемам [1]. Смену среды проводили через 48 ч.

Испытуемыми гормонами, добавляемыми в культуральную среду в различных комбинациях, были эстрадиол-17 $\beta$  (США), прогестерон (ГДР), инсулин (СССР), гид-

рокортизон (Венгрия), пролактин и соматотропин (США). Доза эстрогена — 0,2 мкг на 1 мл среды, прогестерона — 2, всех остальных гормонов — 5 мкг/мл (конечная концентрация). В питательную среду включали также стрептомицин (100 мкг/мл) и пенициллин (100 ед/мл).

Влияние гормонов изучали по ряду морфологических и биохимических показателей, характеризующих процессы дифференцировки и функциональной активности клеток молочной железы. Критериями функционального развития железистой ткани служили интенсивность биосинтеза

нуклеиновых кислот, биосинтеза и фосфорилирования белков ядра и индукция синтеза казеина. Мечеными предшественниками для исследуемых макромолекул служили  $^3\text{H}$ -тимидин,  $^{14}\text{C}$ -лизин и  $^{32}\text{P}$ -ортофосфорная кислота без носителя. Нуклеиновые кислоты выделяли по [4], казеин — с помощью ренина [5], гистоны фракционировали по [6], негистоновые белки — по [7], количество белка в препаратах определяли по [8], нуклеиновых кислот — по [4]. В качестве стандарта гистонов использовали гистоновые фракции тимуса 5—8-дневных козлят.

## Результаты

Исходная ткань молочной железы половозрелых небеременных животных состоит в основном из заключенной в строму жировой ткани и небольших островков железистой паренхимы, локализованной преимущественно вблизи протоков и цистерны железы. Железистая ткань представлена разрозненными дольками, окруженными жировой подушкой серповидной формы. Клетки альвеолярного эпителия призматической формы с круглыми или овальными ядрами, расположенными продольной осью перпендикулярно базальной мембране альвеолы.

В первые двое суток культивирования эксплантатов без гормонов заметно уменьшились размеры большинства альвеол; очаги пролиферации сохранились лишь в отдельных участках стромы и у небольшой популяции малодифференцированных клеток вблизи протоков и кровеносных сосудов. При более длительном культивировании эксплантатов в среде без гормонов наблюдались признаки дегенерации клеток.

Уже в первые сутки культивирования эксплантатов с эстрадиолом (Э) и прогестероном (Пр) возникали пролиферативные очаги в строме и усилилось образование альвеол из эпителия протоков. Первичные альвеолы формируются, как правило, из многоклеточного эпителия и редко — из двух слоев клеток. На третьи сутки культивирования с ЭПр общее количество железистого эпителия увеличилось примерно на 20 % в сравнении с контролем. Возросла «насыщенность» альвеолярной стенки клетками, что отражает увеличение массы клеток в альвеоле.

Электронно-микроскопические исследования не показали выраженной степени дифференцировки клеток при внесении в среду Э и Пр. Шероховатый эндоплазматический ретикулум представлен короткими мембранными канальцами; ядрышки в ядрах мелкие и слабо различимы среди глыбок конденсированного хроматина. В гиалоплазме находятся преимущественно свободные рибосомы, мембрансвязанных полисом очень мало, митохондрии с плотным матриксом. Более четкую картину приобретает десмосомо-митохондриальный комплекс (рис. 1). В местах стыковки клеток локализуется от 2 до 7 десмосом разного размера. Для культивируемых тканей с ЭПр характерно наличие очень крупных десмосом (в 2—7 раз больше обычных).

При добавлении к эксплантатам, которые до этого культивировались с ЭПр, инсулина (И) или инсулина + гидрокортизона (ИГ) отмечается более интенсивная пролиферация клеток. Комплекс гормонов ЭПрИГ вызывает формирование альвеол преимущественно вблизи выводных протоков, что, по-видимому, объясняется большей доступностью этих участков клеток для гормонов.

Ультраструктурно клетки под влиянием ЭПрИ не претерпели заметных дальнейших превращений. При добавлении в среду ЭПрИ гидрокортизона усиливалось формирование в клетках эндоплазматического ретикула.

Четкая дифференцировка альвеолярных клеток наблюдалась в среде с ЭПрИГП (П — пролактин). Уже на вторые сутки культивирования эксплантатов железистые клетки увеличивались в 1,5—2 раза; параллельно в дольках возрастало число альвеол (рис. 1 и 2). Объем цито-

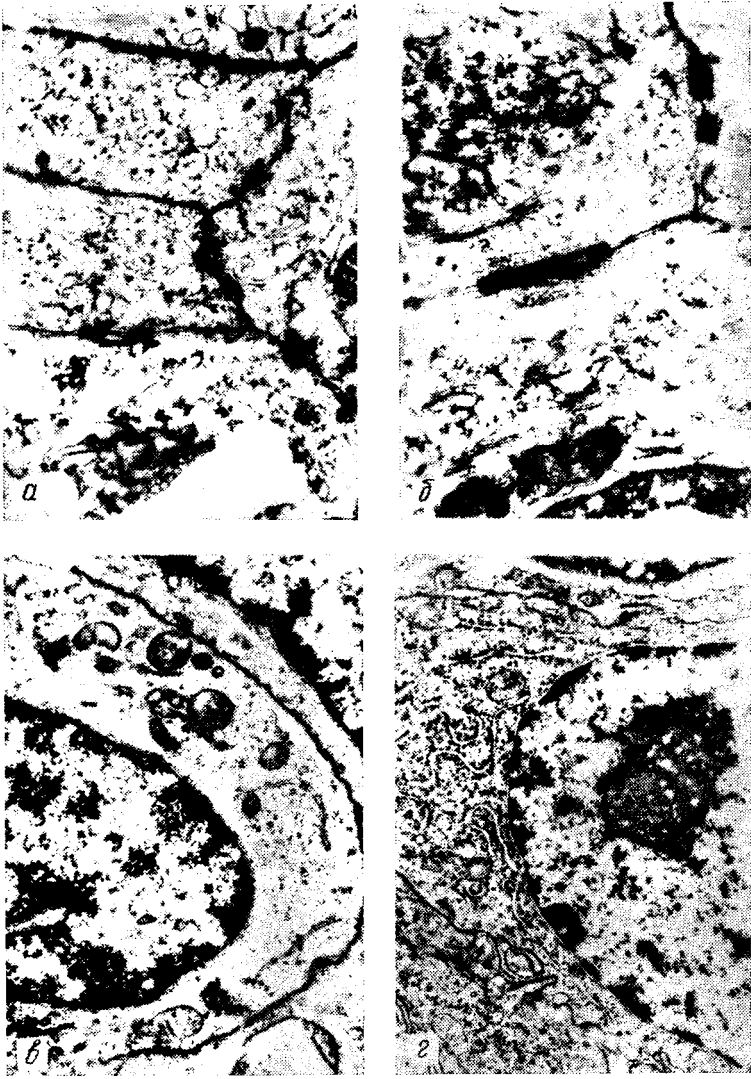


Рис. 1. Ультраструктура альвеолярного эпителия молочной железы  
телки.

*a, б* — увеличение числа и размеров десмосом в зонах контакта плазмалемм соседних клеток альвеол после 2-суточного культивирования в среде с ЭПр; *в* — дифференциация белоксинтезирующего аппарата клеток после 2-суточного культивирования в среде без гормонов; *г* — то же в среде с ЭПриГП.

плазмы в альвеолярных клетках увеличился в 2—3 раза. В ядрах эпителия существенно (в 3—4 раза) возрастал объем ядрышек. Преобладал диффузный хроматин; эндоплазматический ретикулум представлен многорядными канальцами с рибосомами на поверхности мембран и слабоосmioфильным веществом внутри канальцев. У хорошо развитых митохондрий матрикс светлый, локализовались они чаще всего вблизи десмосом. Увеличилось число клеток с фигурами центриолей.

По мере культивирования эксплантатов с ЭПриГП происходило прогрессивное замещение жировой ткани железистой. В результате заметно возрастало количество долек и альвеол в дольках. Выразенно активизировалась пролиферация миоэпителия и стабилизировалась ориентация его по отношению к альвеолярным клеткам; во многих пунктах появились капилляры с характерным для эндотелия высоким пиноцитозным индексом.

Наряду с пролиферацией и дифференциацией клеток непосредственно в культивируемой ткани очаги клеточного роста формировались за пределами эксплантата. Они состояли преимущественно из малодиф-

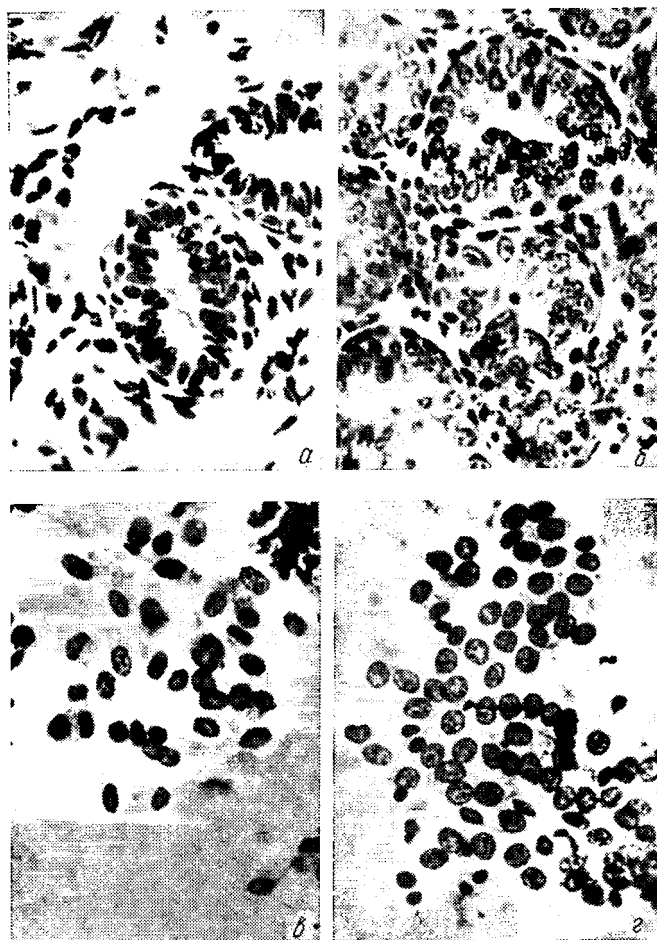


Рис. 2. Альвеолярный эпителий молочной железы телки.

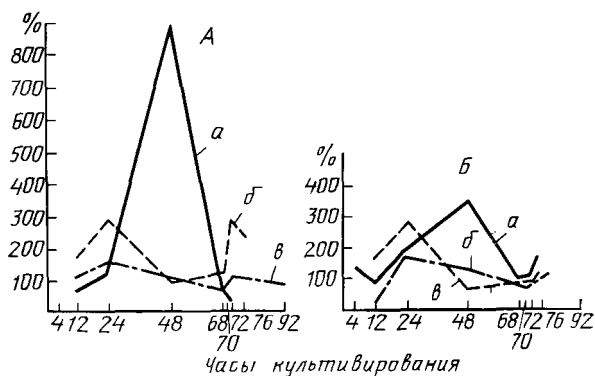
*а* — картина до культивирования; *б* — после культивирования в среде ЭПРИГ; *в* — внеэксплантатный рост клеток на подложках после 3-суточного культивирования в контрольной среде; *г* — то же в среде ЭПРИГ.

ференцированных клеток и значительно варьировали по размерам. На третьи сутки Э вызывал рост клеток вокруг всего эксплантата, а ЭПр усиливали формирование альвеолоподобных структур. Такая же картина внеэксплантатной пролиферации отмечалась и при внесении в культуральную среду ЭПРИГ (рис. 2).

В другой серии опытов — на эксплантатах молочной железы суягных коз секреторный эпителий был представлен двумя основными популяциями клеток: уже дифференцированными в условиях *in vivo* и камбиальными. В толще жировой и соединительной тканей обнаруживаются редкие сформированные альвеолы. С увеличением сроков беременности доля малодифференцированных клеток в общем пуле клеток значительно уменьшается.

В эксплантатах молочной железы, полученной в начале беременности, лобуло-альвеолярные структуры появляются лишь на 96-м часу культивирования эксплантатов с ИГП. Однако достоверных изменений размеров альвеол под воздействием этого комплекса гормонов не происходит. В эксплантатах железы от животных в середине беременности И или ИГ повышают содержание альвеолярной ткани за счет снижения содержания жировой и соединительной. Размеры альвеол увеличиваются более чем втрое, достоверно также увеличиваются ядра. Наиболее заметные изменения наблюдаются в условиях культивирования эксплантатов с ИГП: на 76-м часу в среде с ИГП в полости альвеол появляется характерный лактальный секрет. Увеличенные в объеме ядра локализуются у базальной мембраны. Аналогичное влияние оказывает этот гормональный комплекс и на эксплантаты молочной железы, полученные в конце беременности. Уже на 48-м часу культивирования

Рис. 3. Включение  $^{32}\text{P}$  в ДНК (А) и  $^{14}\text{C}$ -лизина в гистоны (Б) под влиянием И.  
 а — беременность 1 мес, б — 2—3 мес. в — 4—4,5 мес.



(через 2 ч после введения П) морфологическая картина эксплантатов напоминает таковую железы нормально лактирующего животного.

При электронно-микроскопическом изучении тканей после культивирования с ИГП в зоне комплекса Гольджи обнаруживаются секреторные вакуоли, а в апикальной зоне — липидные глобулы. Митохондрии с просветленным матриксом и хорошо развитыми кристами. В цитоплазме изобилуют филаменты, образующие цитоскелет клеток; в альвеолярных клетках, в особенности в зоне апексов, интенсивно формируются межклеточные контактные структуры типа десмосом и замыкательных пластинок.

Результаты исследований функциональной дифференцировки эксплантатов молочной железы суягных коз показали, что синтез ДНК в первые двое суток культивирования в значительной степени регулируется И (рис. 3, А). Введение в среду Г (рис. 4, А) не влияет на синтез ДНК в первые 12 ч культивирования, однако в последующем этот гормон ингибирует синтез ДНК. Можно думать, что Г участвует в регуляции размножения клеток, вначале создавая, а затем ограничивая условия для митогенного действия инсулина на клетки железы. Введение в среду П почти не оказывает воздействия на синтез ДНК (рис. 4, А), что наводит на мысль об отсутствии как митогенного, так и антимитогенного действия П на генетический аппарат секреторных клеток железы, по крайней мере в период беременности животных.

Усиление И синтеза ДНК наиболее значительно в первый месяц беременности и максимально на 48-м часу культивирования. При использовании эксплантатов от животных в середине и конце беременности максимальный синтез ДНК наблюдается в первые сутки культивирования (рис. 3, А). Перед родами стимулирующий эффект И на синтез ДНК самый низкий, что можно объяснить интенсивным делением клеток в исходной ткани.

Поскольку регуляция синтеза ДНК непосредственно связана с метаболизмом белков ядра, естественно было исследовать его в тканях от животных разных сроков беременности. На рис. 3, Б и 4, Б можно видеть, что динамика гормонзависимого синтеза гистонов в тканях железы во всех сериях опытов в общих чертах повторяет таковую синтеза ДНК. Тем самым подтверждается представление о том, что синтез осуществляется в той же фазе клеточного цикла, что и редупликация ДНК. Таким образом, синтез этих обоих классов макромоле-

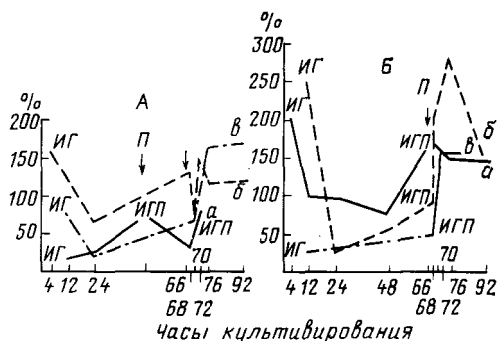


Рис. 4. Включение  $^{32}\text{P}$  в ДНК (А) и  $^{14}\text{C}$ -лизина в гистоны (Б) под влиянием ИГ и ИГП.

Остальные обозначения те же, что на рис. 3.

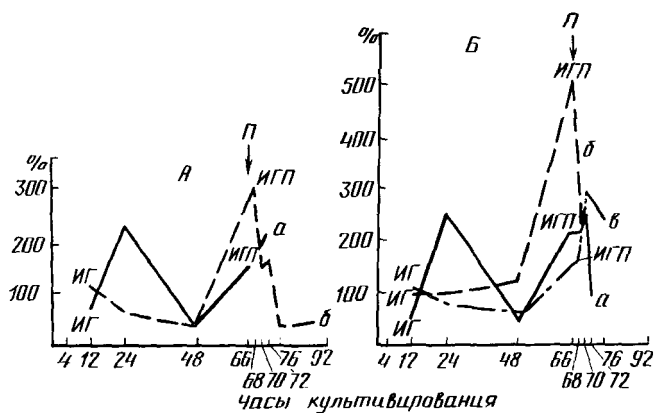


Рис. 5. Включение  $^{32}\text{P}$ -ортофосфата в гистоны (А) и ядерные РНК (Б) под действием ИГ и ИГП.

Остальные обозначения те же, что на рис. 3.

кул в клетках молочной железы жвачных находится под контролем И и Г, по-видимому, на протяжении всей беременности животных.

Фосфорилирование суммарных гистонов в процессе дифференцировки клеток контролируется всеми тремя испытываемыми гормонами. В первые сутки культивирования включение ортофосфата в гистоны усиливается ИГ, а после 66 ч стимулируется введением П и поддерживается на более высоком уровне всей триадой гормонов (рис. 5, Л). Можно отметить, что в середине беременности максимальное включение фосфора в гистоны в среде с ИГ имеет место на 12-м часу культивирования, в то время как в эксплантатах железы от животных в начале беременности пик фосфорилирования гистонов проявляется только через сутки культивирования. Введение в среду П уже в первые 2 ч усиливает скорость включения фосфата в гистоны, причем наибольшее включение имеет место в эксплантатах железы от животных в середине беременности.

Приблизительно такая же динамика фосфорилирования наблюдается и у негистоновых белков ядра (рис. 6, А). Первые 12 ч культивирования характеризуются интенсивным включением меченого фосфата в кислые белки ядра под действием как И, так и ИГ. Второй пик фосфорилирования этих белков вызывается внесением в среду П. Усиление синтеза негистоновых белков И и ИГ наиболее отчетливо проявляется на первом месяце беременности животного (рис. 6, Б). Таким образом, синтез и фосфорилирование белков ядра в эксплантатах железы в среде с ИГ предшествуют синтезу ДНК, т. е. происходит в G1-фазу клеточного цикла.

Как видно из рис. 6, Б, вторая волна синтеза кислых белков ядра обусловлена введением в среду П. Спустя 2 ч скорость синтеза негистоновых белков в среде с П усиливается по сравнению с контролем в начале и середине беременности животного. Можно считать, что первое усиление синтеза и фосфорилирования негистоновых белков от ИГ непосредственно предвещает синтез ДНК в популяции материнских кле-

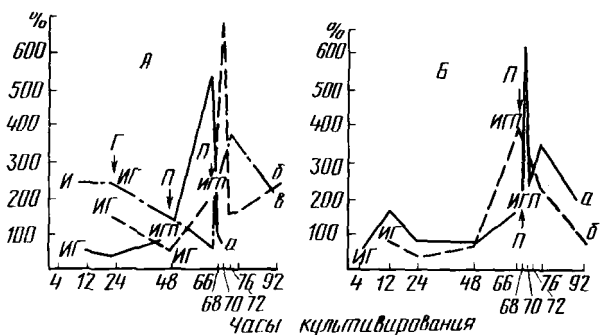


Рис. 6. Включение  $^{32}\text{P}$ -ортофосфата (А) и  $^{14}\text{C}$ -лизина (Б) в гистоновые белки под влиянием И, ИГ и ИГП.

а — беременность 1 мес, б — 2—3 мес, в — 2—3 мес при введении ИГ.

ток. Второе повышение синтеза этих белков происходит, видимо, в дочерних клетках в ту же клеточную фазу, но только после митоза, что, несомненно, определяется изменением транскрипции в последней генерации клеток.

При наличии в культуральной среде И или ИГ существенно повышается синтез РНК и ускоряется ее транспорт из ядра в цитоплазму (рис. 5, Б). Косвенно это свидетельствует об ускорении превращения 45S РНК, 28S и 18S РНК, об усилении биогенеза рибосом и переносе их в цитоплазму. Первая волна биосинтеза РНК достигает своего максимума на 24-м часу культивирования эксплантатов.

Пролактин значительно усиливает включение метки в ядерную и цитоплазматическую фракции РНК уже спустя 30 мин после его введения в ИГ-среду. Особенно большое повышение (6-кратное над контролем) синтеза РНК отмечается в ядрах эксплантатов железы от животных в середине беременности (рис. 5, Б, 7, А). Следует полагать, что вариации реакций на гормоны обусловлены разной исходной степенью дифференцировки тканей и клеток молочной железы.

Внесение П в среду с эксплантатами, которые до этого инкубировались с ИГ, обуславливает второй пик синтеза РНК (рис. 7, А). Усиление синтеза РНК наблюдается уже через 0,5 ч после введения П. Приблизительно на 80 % этот синтез представлен образованием иРНК, поскольку примененный в опытах актиномицин Д в дозе, ингибирующей синтез рРНК, подавляет синтез тотальной РНК примерно на 20 %. В течение последующих двух часов синтез РНК в сравнении с контролем снижался и вновь достигал высоких значений спустя 4—6 ч после введения П в среду.

В большинстве опытов П, примененный одновременно с ИГ, в первые часы культивирования не оказывал аддитивного влияния на синтез РНК и метаболизм белков хроматина. Эти данные могут свидетельствовать, что клетками-мишенями для П в молочной железе являются постмитотические клетки, образовавшиеся от предыдущего действия других гормонов.

Регуляция транскрипции может рассматриваться как важнейшее условие синтеза молочных белков, поскольку спустя примерно 6—10 ч после введения П в среду наблюдается отчетливое усиление синтеза казеина (рис. 7, Б). Наряду с морфологическими данными это свидетельствует об известной степени завершенности процессов дифференцировки эпителиальных клеток молочной железы беременных животных в условиях ее культивирования на сбалансированной питательной среде с гормонами.

Культивирование молочной железы небеременных животных (телок) в среде с ЭПРИГП сопровождалось достоверным повышением биосинтеза ДНК на 24-м и 72-м часу. При замене П соматотропным гормоном (среда ЭПРИГС) наблюдалась более ранняя активация синтеза ДНК — пик на 12-м часу культивирования, но на вторые сутки уровень его был примерно таким же, как на среде с ЭПРИГП, затем намечался постепенный спад синтеза к 72-му часу, еще более выраженный к концу культивирования (рис. 8).

В среде с ЭПРИГСП в первые сутки культивирования динамика синтеза ДНК мало отличалась от таковой в среде с ЭПРИГС: первый пик синтеза ДНК в обоих случаях приходился на 12 ч (он был в 2 раза выше, чем в контроле и в среде с ЭПРИГП); второй пик проявился на 72-м часу культивирования.

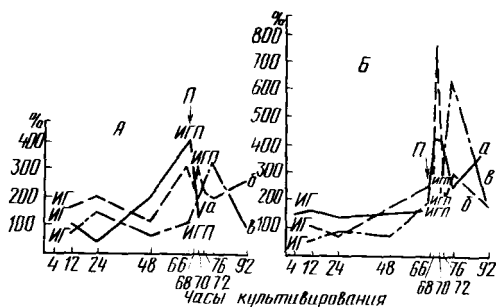


Рис. 7. Включение <sup>32</sup>P-ортофосфата в РНК цитоплазмы (А) и <sup>14</sup>C-казеина в казеин (Б) под влиянием И, ИГ и ИГП.

Остальные обозначения те же, что на рис. 3.

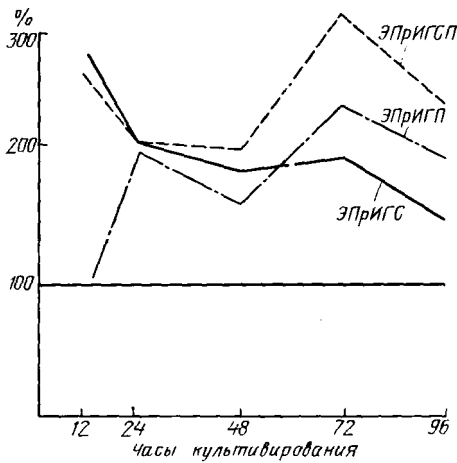


Рис. 8. Включение  $^{32}\text{P}$ -ортофосфата в ДНК клеток молочной железы телок при разном сочетании гормонов в среде.

на синтез РНК, выделенных препаративно из ядер. В большей мере (примерно в 3 раза) увеличивалось содержание РНК в цитоплазме (рис. 10). Влияние ЭПриГП и ЭПриГС на накопление РНК в цитоплазме было довольно сходным. Максимальная эффективность раздельного применения П и С на фоне ЭПриГ проявлялась к концу вторых суток культивирования. При совместном применении этих двух гормонов наблюдалось заметное увеличение и смещение (к 72 ч) пика синтеза РНК (рис. 11). В целом в опытах на молочной железе телок пролактин и соматотропин на фоне других испытуемых гормонов оказывали аддитивное влияние.

Высокий уровень РНК в цитоплазме клеток молочной железы при полном наборе использованных гормонов в среде культивирования приводит (спустя некоторое время или одновременно) к индукции синтеза казеина (рис. 11).

В дальнейшем мы изучали метаболизм и функции циклических нуклеотидов и полиаминов, рассматриваемых в качестве посредников дей-

Динамика гормонзависимого синтеза и фосфорилирования гистонов в эксплантатах железы небеременных животных в целом повторяет динамику синтеза ДНК (рис. 9). Приблизительно такая же динамика фосфорилирования и синтеза наблюдается у негистоновых белков ядра. Первые часы культивирования характеризуются менее интенсивным включением меченого фосфата в кислые белки; второй пик фосфорилирования этих белков имеет место на третьи сутки культивирования. Примечательно, что количество синтезированных гистонов и кислых белков примерно в 2 раза больше количества ДНК, что, видимо, свидетельствует о прекращении синтеза ДНК [9].

Меньшее влияние оказали ЭПр

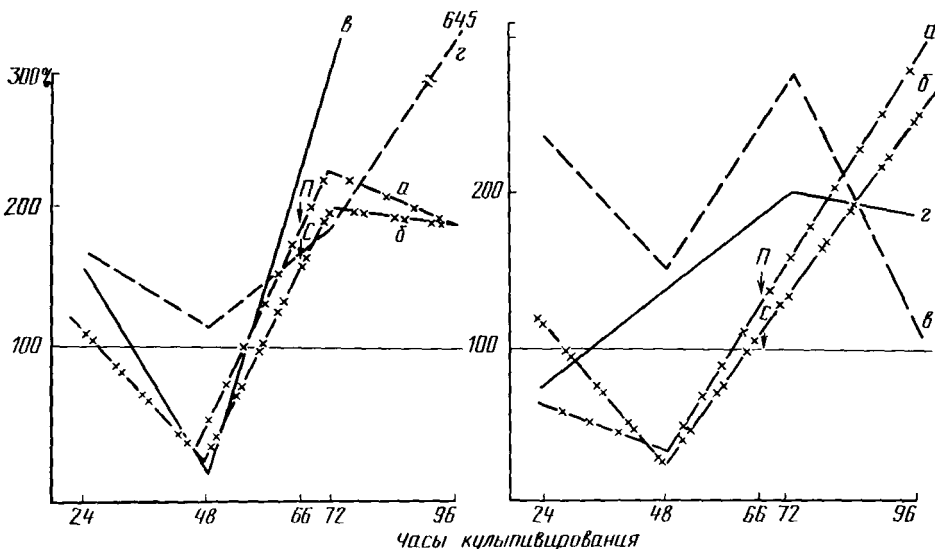


Рис. 9. Включение  $^{32}\text{P}$ -ортофосфата и  $^{14}\text{C}$ -лизина в гистоны ядер (слева) и в кислые белки ядер клеток молочной железы телок.

а, б —  $^{32}\text{P}$ +соответственно ЭПриГП и ЭПриГС; в, з —  $^{14}\text{C}$ +соответственно ЭПриГП и ЭПриГС.



ствия гормонов [10, 11]. Концентрацию цАМФ в культивируемых эксплантатах и в тканях молочной железы интактных животных (коз) определяли с помощью набора фирмы Amersham; активность ферментов метаболизма цАМФ — аденилатциклазы и 3,5-АМФ-фосфодиэстеразы — по [12]. Полиамины — спермин, спермидин и путресцин — испытывали (4 ммоль — конечная концентрация) на фоне полной или частичной комбинации гормонов в культуральной среде, надеясь выяснить, на какой стадии роста и развития молочной железы они проявляют возможное влияние. В одном из вариантов опыта осуществляли культивирование желез с полным комплексом испытываемых гормонов и полиаминов, в другом — с полиаминами и ЭПриП, поскольку в дифференциации молочной железы мыши функцию гидрокортизона мог заменить спермидин [11]; в третьем — с одними полиаминами.

Полученные данные показали, что концентрация цАМФ и активность аденилатциклазы в тканях железы достигают максимума в конце беременности, а затем снижаются по ходу лактации. Напротив, активность цАМФ-фосфодиэстеразы незначительно изменяется в последние недели беременности; максимум активности этого фермента наблюдается в середине лактации. Подобная тенденция в изменении компонентов аденилатциклазной системы выявлена и в условиях экспериментальной дифференцировки молочной железы.

Среди испытанных полиаминов спермидин характеризовался наибольшим влиянием на рост, дифференцировку и функционирование молочной железы телок, о чем можно было судить по морфологии секреторных клеток, усилению синтеза ДНК, РНК и казеина.

В целом результаты опытов свидетельствуют о том, что экспериментальную дифференцировку клеток и тканей молочной железы круп-

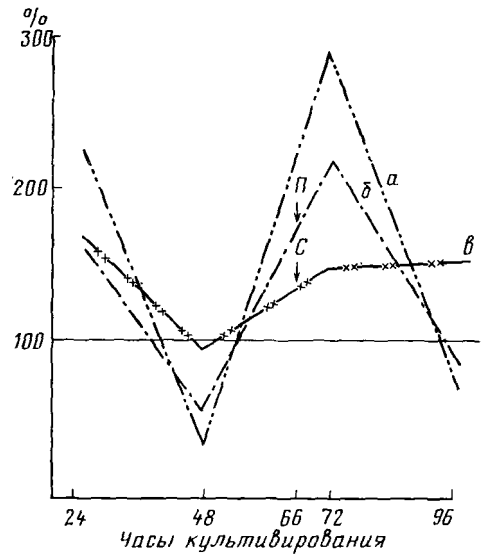


Рис. 10. Включение  $^{32}\text{P}$ -ортофосфата в ядерные и цитоплазматические РНК молочной железы телок.  
а — ЭПриГС (в цРНК); б — ЭПриГП (в яРНК); в — ЭПриГС (в яРНК).

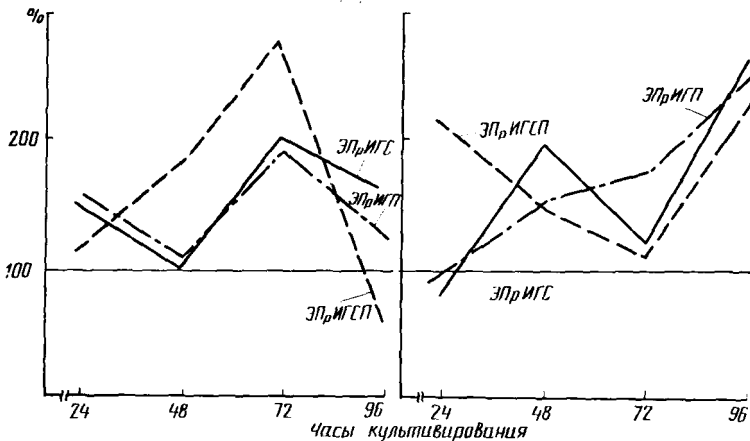


Рис. 11. Включение  $^{32}\text{P}$ -ортофосфата в цРНК (слева) и  $^{14}\text{C}$ -лизина в казеин клеток железы телок при разном сочетании гормонов в среде.

ного рогатого скота и мелких жвачных можно вызвать в любой период постнатального онтогенеза животных. В комплекс метаболических и лактогенных гормонов, необходимых для роста и развития молочной железы девственных животных (в тканевой культуре), должны входить эстрогены и прогестерон, в то время как для железы беременных животных в аналогичных условиях достаточно сочетания инсулина и гидрокортизона с П и (или) соматотропином.

В процессе дифференцировки клетки молочной железы проходят ряд последовательных стадий, в результате чего формируются необходимые морфологические структуры и индуцируется синтез и метаболизм определенных молекул: ДНК, РНК, белков ядра, цАМФ, полиаминов и секреторных (молочных) белков.

Морфологически экспериментальный маммогенез проявляется в увеличении количества клеток (пролиферации) в зоне образования будущей альвеолы, морфогенетически активной форме ядер, появлении фигур центриолей, относительно небольшом объеме цитоплазмы. Однако органеллы у недифференцированных клеток развиты недостаточно, в особенности те из них, которые образуют морфологическую основу белоксинтезирующей системы клеток. Характерным изменениям в процессе формирования клеточных комплексов подвергаются межклеточные контактные структуры; степень их выраженности коррелирует с уровнем организации ткани на последовательных этапах органогенеза молочной железы. При этом эстрогены, Пр и И поддерживают структурную интеграцию тканей, вызывают синтез ДНК и митоз клеток и, как следствие, рост протоков (главным образом) и альвеол молочной железы. Под влиянием адреналовых кортикоидов формируются эндоплазматический ретикулум, комплекс Гольджи и другие структуры клетки; пролактин, по-видимому, ускоряет образование рибосом и формирование полисомных комплексов, на которых синтезируются белки молока. У жвачных (по крайней мере в условиях культивирования молочной железы) соматотропин в сочетании с другими гормонами обладает сходной с П функцией в процессах маммо- и лактогенеза.

Начальным этапом функциональной дифференцировки клеток молочной железы является синтез негистоновых белков ядра (под влиянием овариальных гормонов у небеременных животных и инсулина у беременных), что свидетельствует о важной роли этого класса хромосомных белков в активации клеточного генома. В дальнейшем стимулируется биосинтез ДНК и индуцируются синтез и фосфорилирование гистонов. Фосфорилирование модифицирует структуру хроматина, депрессирует ДНК, вызывая или усиливая тем самым процесс транскрибирования генов. Гормонзависимые синтез и фосфорилирование белков ядра сопровождаются транскрипцией всех классов РНК, однако при включении в комплекс испытуемых гормонов П и (или) соматотропина образуются преимущественно информационные РНК для синтеза основных молочных белков — казеинов.

Высокие концентрации цАМФ в тканях молочной железы в период беременности у интактных животных и во время пролиферации клеток в культивируемых эксплантатах свидетельствуют о необходимости этого метаболита для роста железы, в то время как спад активности аденилатциклазы и уровня цАМФ в железе после родов и в дифференцированной ткани эксплантатов может означать, что цАМФ действует как негативный регуляторный фактор в лактогенезе.

Полученные данные указывают на некую важную функцию полиаминов в гормональном контроле лактогенеза у жвачных животных. Подобно циклическим нуклеотидам, полиамины, вероятно, являются посредниками действия гормонов на молочную железу. Поскольку полиамины при физиологических значениях рН ведут себя как катионы, которые могут взаимодействовать с различными отрицательно заряженными молекулами (нуклеиновыми кислотами, белками и фосфолипидами), наблюдаемые в опыте эффекты полиаминов, по-видимому, обусловлены именно этими их свойствами.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Калантар И. Л., Медведев И. К. Роль отдельных гормонов в дифференциации клеток молочной железы жвачных в культуре ткани. — С.-х. биология, 1976, т. XI, № 3, с. 421—424. — 2. Торрег Y. I. — Recent Prog. Horm. Res., 1976, vol. 26, p. 287—308. — 3. Forsyth I. A. The endocrinology of lactation. — Biochemistry of lactation, ed. Mepham T. B., 1983, p. 310—349. — 4. Wanlemaeher R., Banks W., Wunner W. — Analyt. Biochem., 1965, vol. 11, p. 320—325. — 5. Jurgens W. G., Stoskdale F. E., Topper Y. I., Elias I. I. — Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1965, vol. 54, p. 629—634. — 6. Stel-Iwagen R., Cole R. — J. Biol. Chem., 1968, vol. 243, p. 4452—4455. — 7. Marty de Morales M., Blat C., Harel L. — Exper. Cell. Res., 1974, vol. 86, p. 111—119. — 8. Oliver Lowry, Nira I., Rosebrought A., Lewis Farr, Rose I. Rend all. — J. Biol. Chem., 1951, vol. 193, N 1, p. 265. — 9. Bennet J. et al. — Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1963, vol. 50, p. 893—900. — 10. Rillema I. A. — Federation Proceeding, 1980, vol. 39, N 8, p. 2593—2598. — 11. Oka T., Sakai T., Lundgren D. W., Perry I. W. Polyamines in growth and development of mammary gland. Hormones, receptor and breast cancer, ed. by W. L. McGuire, Raven Press, N. Y., 1978, p. 301—323. — 12. Sapag-Hagar M., Greenbaum A. L. — Eur. J. Biochem., 1974, vol. 47, p. 303—312.

*Статья поступила 10 июля 1987 г.*

## SUMMARY

The effect of hormonal factors on proliferation and differentiation of tissues and cells of mammary gland in heifers, young goats and pregnant goats was studied by cultivation of tissue explants with the use of morphological and biochemical control.

It is shown that estrogens and progesterone should be included into the complex of metabolic and lactogenic hormones which are required for growth and development of mammary gland cells in virgin animals; for pregnant animals the combination of insulin and hydrocortison with prolactin and (or) somatotropin is sufficient. It is found that non-histon proteins of nucleus are very important for cell genome activation. During proliferation the level of cyclic adenosinemonophosphate (cAMPh) is high, which shows that it is necessary for mammary gland growth; after parturition and in differentiated explant tissue the cAMPh level gets lower. Probably, its effect is like that of negative regulatory factor of lactogenesis.

The data about the role of polyamines (spermidine, spermine, putrescine) in hormonal control of lactogenesis in ruminants are obtained. Their role as that of intermediary for hormonal effect in tissue culture is, probably, due to interaction with complex organic anions.