

© В. П. Мамина, Е. А. Байтимова, 2017
УДК 591.465.3:577.48:599.323.4

В. П. Мамина, Е. А. Байтимова

МЕЖГОДОВАЯ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ГОНАД ЕВРОПЕЙСКОЙ РЫЖЕЙ ПОЛЕВКИ В ОПТИМАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ ОБИТАНИЯ

Лаборатория популяционной экологии и моделирования (зав. — д-р биол. наук Г. В. Оленев), лаборатория функциональной экологии наземных животных (зав. — д-р биол. наук В. Л. Вершинин), ФГБУН «Институт экологии растений и животных» УрО РАН, г. Екатеринбург

С использованием гистологических и морфометрических методов исследованы органы половой системы 160 самцов и 71 самки рыжей полевки, обитающей в лесах Висимского государственного природного биосферного заповедника, в годы низкой, роста и пика численности популяции. У исследованных животных выявлена межгодовая морфофункциональная изменчивость гонад, которая связана с колебаниями численности популяции. При пике численности популяции отмечены деструкция сперматогенного пласта, уменьшение диаметра семенных канальцев, площади интерстициальных эндокриноцитов и сустентоцитов, что свидетельствует об угнетении герминативной функции семенника и снижении его эндокринной функции. В яичниках у беременных самок в фазе пика численности популяции наблюдается уменьшение размеров фолликулов. Межгодовая изменчивость размера фолликулов у неполовозрелых самок может иметь прогностическую значимость для оценки изменения динамики численности популяции.

Ключевые слова: семенник, интерстициальные эндокриноциты, сустентоциты, яичник, фолликулы

Морфофункциональная характеристика семенников млекопитающих в условиях сезонного изменения репродуктивной активности и антропогенного воздействия дана достаточно полно [8, 9]. Однако в популяциях мелких млекопитающих большое влияние на состояние половой системы оказывают размер сообщества, его численность, плотность. Исследования динамики численности популяции млекопитающих показали, что, несмотря на закономерность сезонных эндокринных колебаний, для каждой фазы численности характерны свои особенности [11]. С увеличением плотности популяции возникают явления физиологического стресса, приводящие к торможению полового созревания у молодых особей и снижению репродуктивной активности у взрослых. Для многих видов млекопитающих характерна связь репродуктивной функции с плотностью природной популяции, а также этологической структурой популяции. На основе зоосоциального поведения проявляются авторегуляторные механизмы, которые поддерживают пространственную и демографическую структуру популяции, соответствующую условиям обитания. Действие внутривидовых механизмов осуществляется, главным образом, через нейро-эндокринную систему. Известно, что семенник и яичник, помимо генеративной функции, выпол-

няют эндокринную, связанную с выработкой гормонов, которые взаимодействуют с гипоталамо-гипофизарной системой [6, 10]. Помимо центральной регуляции, существуют местные (паракринные) регуляторные факторы, взаимодействующие в гонадах и обеспечивающие оптимальные условия для развития половых клеток. В сложной системе центральных и местных регуляторных факторов остается много неясных и противоречивых моментов, требующих уточнений, особенно при разных уровнях численности популяции. Необходимость в изучении межгодовой изменчивости морфофункционального состояния гонад лесных полевок продиктована тем обстоятельством, что в большинстве случаев в качестве биоиндикатора антропогенной нагрузки на организм используются мелкие млекопитающие.

Цель данной работы — анализ структурно-функционального состояния семенников и яичников рыжей полевки в разные годы, для которых характерны колебания численности популяции.

Материал и методы. Объектом исследования служили гонады самок и самцов рыжей полевки (*Clethrionomys glareolus* Schreber, 1780), обитающих в условно-коренных и коренных пихтово-еловых лесах Висимского государственного природного биосферного заповедника. Отлов животных проводили в годы низкой (1990, 1993), роста (1991, 2003, 2006) и пика (1992, 2001, 2004) численности популяции

Сведения об авторах:

Мамина Вера Павловна (e-mail: mamina@ipae.uran.ru), Байтимова Екатерина Александровна (e-mail: bay@ipae.uran.ru), лаборатория популяционной экологии и моделирования, лаборатория функциональной экологии наземных животных, ФГБУН «Институт экологии растений и животных» УрО РАН, 620144, г. Екатеринбург, ул. 8 Марта, 202

в период июнь — начало августа. Фазы популяционного цикла определяли с учетом относительной численности и демографической структуры популяции [2]. При исследовании морфофизиологических параметров рыжей полевки использовали метод морфофизиологических индикаторов [7]. Животных классифицировали на перезимовавших, сеголеток половозрелых и сеголеток неполовозрелых. Перезимовавшие особи и половозрелые сеголетки по репродуктивным показателям значимо не различались, поэтому их объединили в одну группу — размножающиеся животные. О генеративном состоянии самцов судили по размерам семенников, их тургору, наличию в придатке семенников сперматозоидов, величине семенных пузырьков и состоянию сперматогенеза в извитых канальцах. Участие в размножении самок оценивали по наличию зрелых фолликулов и желтых тел беременности в яичниках, присутствию эмбрионов и плацентарных пятен. Животных умерщвляли путем цервикальной дислокации в соответствии с этическими нормами работы с животными. Для гистологического анализа были использованы 160 самцов и 71 самка. Полученный материал фиксировали в 12% нейтральном формалине, парафиновые срезы толщиной 5–7 мкм готовили по стандартной методике, окрашивали гематоксилином Майера — эозином. На светооптическом уровне в семенниках с помощью программного продукта SIAMS Photolab определяли диаметр семенных канальцев (мкм), площадь ядер (мкм²) интерстициальных эндокриноцитов и сустентоцитов. Размеры ядер этих клеток характеризуют их функциональную активность, которая у первых связана с выработкой тестостерона у вторых — с синтезом андрогенсвязывающего белка (АСБ), ингибина и других белков. У неполовозрелых животных эндокринный отдел семенников не исследовали. Измерение максимальных диаметров фолликулов проводили на серийных срезах, изготовленных по стандартной методике с использованием программного продукта ImageJ в соответствии с общепринятыми рекомендациями [1]. Для оценки интенсивности процесса фолликулогенеза измеряли максимальные диаметры растущих (вторичных и третичных) фолликулов (мкм) в яичниках неполовозрелых и беременных самок. Для исключения влияния возрастных особенностей яичника у неполовозрелых самок были отобраны рыжие полевки, близкие по массе. Выбор беременных самок обусловлен тем, чтобы исключить влияние особенностей овариального цикла половозрелых животных на функциональную активность яичника. Статистическую обработку

данных выполняли с помощью моделей дисперсионного анализа, критерия Фишера (угловое преобразование Фишера для сопоставления двух выборок по частоте распределения признака) (Statistica 6.0). Для статистических тестов принят 5% уровень значимости.

Результаты исследования. При изучении морфофизиологических параметров у размножающихся самцов обнаружено увеличение массы тела животных и массы семенников на пике численности популяции (табл. 1).

Морфологическая характеристика семенников размножающихся самцов в фазе роста численности свидетельствует об активном процессе сперматогенеза, протекающего в семенных канальцах большинства животных (до 95%). На срезах извитых канальцев представлены все стадии цикла сперматогенеза. В фазе пика численности наблюдается уменьшение диаметра извитых канальцев, площади ядер интерстициальных эндокриноцитов, сустентоцитов и увеличение доли извитых семенных канальцев с деструкцией сперматогенного пласта ($P < 0,05$). К наиболее часто встречающимся нарушениям можно отнести: пикноз ядер сперматогенных клеток, наличие многоядерных клеток, дезорганизацию сперматогенного пласта, его отслоение от базальной мембраны, атрофию семенных канальцев. В фазе роста численности доля канальцев с деструкцией сперматогенного пласта составляла 5%, а в фазе пика — 10%. В фазе пика численности у 80% зверьков отмечаются дегенеративные изменения в сперматогенном пласте, у 60% — атрофия семенных канальцев. Площадь ядер интерстициальных эндокриноцитов колеблется от 20 до 41 мкм². На срезах можно различить 3 типа клеток: малые, средние и большие. Малые интерстициальные эндокриноциты локализуются в основном вблизи сосудов (перивазальные), большие — распола-

Таблица 1

Морфофизиологические параметры и морфологические показатели семенников половозрелых (над чертой) и неполовозрелых животных (под чертой) в течение популяционного цикла ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

Фазы численности популяции животных	Масса тела животного, г	Масса семенника, мг	Диаметр семенных канальцев, мкм	Площадь ядер интерстициальных эндокриноцитов, мкм ²	Площадь ядер сустентоцитов, мкм ²	Доля извитых канальцев с дегенерацией в сперматогенных клетках, %
Низкая численность (1)	<u>19,3±2,0</u> 14,8±1,5	<u>300±83</u> 12,8±0,8	<u>170±20</u> 42±4	<u>32±4</u> —	<u>50±5</u> —	<u>7,5±1,0</u> —
Рост численности (2)	<u>24,5±2,6</u> 17,2±2,3	<u>371±88</u> 35±5	<u>176±26</u> 49±11	<u>35±4</u> —	<u>58±6</u> —	<u>5,0±0,8</u> —
Пик численности (3)	<u>27±3</u> 16,4±1,8	<u>515±51</u> 13,7±0,9	<u>151±23</u> 43±5	<u>30,1±2,1</u> —	<u>51±7</u> —	<u>10,5±1,2</u> —
Значимые различия между фазами, $P < 0,05$	<u>1–2; 1–3</u> 1–2	<u>1–2; 1–3; 2–3</u> 1–2; 2–3	<u>1–3; 2–3</u> 1–2; 2–3	<u>1–2; 2–3</u> —	<u>1–2; 2–3</u> —	<u>2–3</u> —

гаются изолированно вблизи семенных канальцев (перитубулярные). В фазе пика численности наблюдается возрастание доли соединительной ткани в интерстиции органа. При изучении морфофизиологических показателей у неполовозрелых животных в фазе пика и низкой численности отмечается снижение массы тела, семенников и уменьшение диаметра извитых канальцев ($P < 0,05$) (см. табл. 1). При анализе структуры семенников у большинства неполовозрелых особей в фазе роста численности сперматогенез находится на стадиях созревания и формирования, в фазе пика и низкой численности — на стадиях роста и размножения (рис. 1).

Корковое вещество яичников у всех изученных животных представлено фолликулами различной степени зрелости, расположенными в соединительнотканной строме. Как у беременных самок, так и у неполовозрелых, на срезах яичника можно обнаружить первичные, вторичные и третичные фолликулы. У беременных животных имеются желтые тела, размеры которых могут достигать 1–1,2 мм. Количество вторичных и третичных фолликулов в яичниках у беременных и неполовозрелых самок примерно одинаково ($F = 0,17$, $p = 0,68$) (табл. 2).

Морфометрический анализ яичников у половозрелых животных показал, что диаметры вторичных и третичных фолликулов значимо больше, чем у неполовозрелых самок ($F = 43,52$, $P < 0,01$) (см. табл. 2). Размеры третичных фолликулов у рыжей полевки в разные годы изменяются незначительно. У беременных самок отмечено значимое увеличение диаметра вторичных фолликулов в фазе роста численности популяции по сравнению с таковым в фазе пика (рис. 2), у неполовозрелых животных такая зависимость иногда нарушается. Так, размеры вторичных фолликулов у неполовозрелых самок в 2004 г. (в фазе пика) оказались выше, чем в 2006 г. (в фазе роста) (см. рис. 2, б). Структура популяции по полу и возрасту в разные годы, в том числе относящейся к одной фазе численности, может существенно различаться по количеству зверьков, вступающих в размножение в год своего рождения. Так, доля половозрелых сеголеток в изучаемом районе в 2003 г. (фаза роста) составила 35%, а в 2006 г. (фаза роста) — 11% ($\phi^* = 4,172$, $P < 0,05$), что свидетельствует о снижении интенсивности размножения. Низкие значения диаметров вторичных фолликулов у неполовозрелых самок в 2006 г. подтверждают данное предположение.

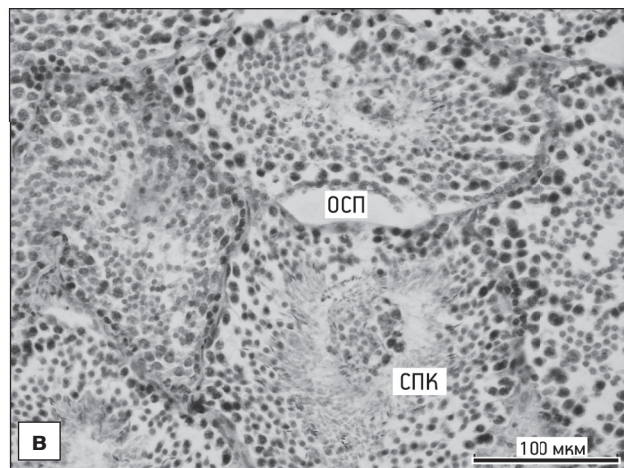
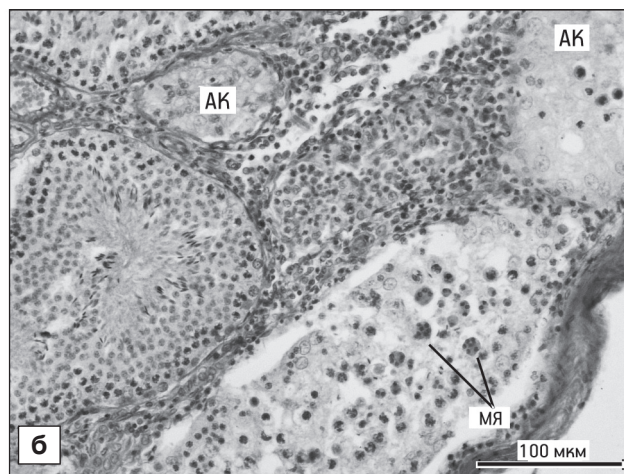
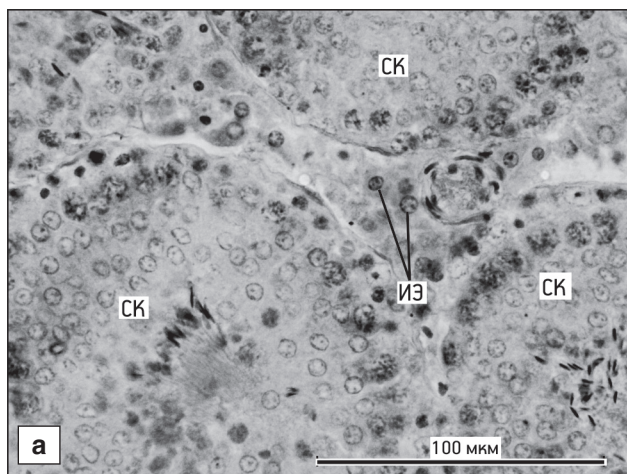


Рис. 1. Семенник половозрелой рыжей полевки.

а — извитые семенные канальцы (СК) с активным сперматогенезом, перивазальные интерстициальные эндокриноциты (ИЭ); б — атрофированные извитые семенные канальцы (АК) с многоядерными клетками (МЯ); в — отслоение сперматогенного пласта (ОСП), слущенные половые клетки в просвет канальцев (СПК). Окраска гематоксилином Майера — эозином

Таблица 2

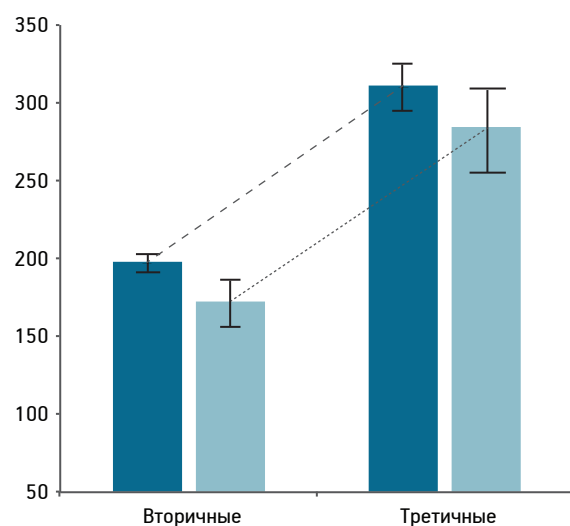
Характеристика яичников самок рыжей полевки ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

Исследованные показатели	Стадия развития фолликула	Группа животных	
		Половозрелые самки (n=37)	Неполовозрелые самки (n=34)
Количество фолликулов	Вторичный	82±10	64±34
	Третичный	10,0±2,0	3±2,6
Максимальные диаметры фолликулов, мкм	Вторичный*	172±9	134±5
	Третичный*	286±18	230±9

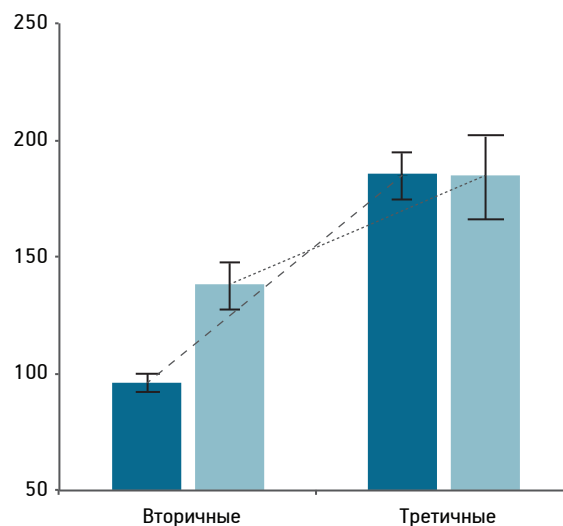
* Различия значимы при $P < 0,05$.

Обсуждение полученных данных. В результате нашего исследования выявлена взаимосвязь между структурно-функциональной изменчивостью гонад рыжей полевки и колебаниями численности популяции. Наблюдаемое увеличение массы зверьков при высокой численности популяции является одной из характерных черт популяционного цикла мышевидных грызунов и обусловлено высокими темпами роста животных [11]. В фазе пика численности популяции увеличение массы семенников сопровождается уменьшением диаметра извитых канальцев, т. е. снижением герминативной функции семенника. В фазе пика численности доля размножающихся животных представлена перезимовавшими зверьками, которые обладают высоким уровнем метаболизма и быстро стареют. У стареющих животных при физиологическом стрессе наблюдается

гормональный дисбаланс и угнетение сперматогенеза [3]. Наблюдавшееся нами снижение функциональной активности интерстициальных эндокриноцитов на пике численности животных является результатом активации гипоталамо-надпочечниковой системы, которая приводит к повышению уровня глюкокортикоидов, понижению содержания лютеинизирующего гормона и, соответственно, снижению уровня тестостерона. Уменьшение диаметра извитых канальцев связано со снижением стероидогенной активности интерстициальных эндокриноцитов. Падение функциональной активности sustentocytov на пике численности животных свидетельствует о снижении синтеза андроген-связывающего белка — АСБ, необходимого для создания оптимальной концентрации тестостерона в извитых семенных канальцах, а также ингибина, контролирующего выработку и высвобождение фолликулостимулирующего гормона. Снижение активности эндокринного отдела семенника вызывает увеличение дегенеративных процессов в сперматогенном пласте. Пусковым механизмом его десквамации и атрофии извитых семенных канальцев является повреждение структур гематотестикулярного барьера. Угнетение функциональной активности клеток эндокринного отдела семенника приводит к паракринным нарушениям в органе. При низкой численности популяции животных также происходит значимое



а



б

Фазы численности популяции:

■ роста

■ пика

■ роста 2006 г.

■ пика 2004 г.

Рис. 2. Максимальный диаметр фолликулов в яичниках половозрелых (а) и неполовозрелых (б) в различные фазы численности популяции самок рыжих полевок (вертикальные отрезки — 0,95-процентный доверительный интервал).

По горизонтальной оси: тип фолликулов; по осям ординат — максимальный диаметр фолликулов (мкм)

снижение функциональной активности клеток эндокринного отдела семенника и его герминативной функции. Такой эффект обусловлен «пренатальным стрессом», когда беременные самки в пике численности испытывают физиологический стресс от переуплотнения, который оказывает влияние на эндокринный статус потомства [11]. В фазе роста численности у большинства неполовозрелых животных скорость полового созревания выше (клетки находятся на поздних стадиях сперматогенеза) по сравнению с низкой и пиком ее численности.

Процесс отбора фолликулов яичника, их рост, созревание и овуляция регулируются не только гонадотропинами и половыми стероидами, но и сложными внутриорганными механизмами [4]. Увеличение размера вторичных фолликулов у беременных самок в фазе роста численности животных свидетельствует о повышении уровня гонадотропинов (фолликулостимулирующего гормона — ФСГ и лютеинизирующего гормона — ЛГ), синтезируемых передней долей гипофиза. При этом отсутствие изменений размеров третичных фолликулов в разные фазы при беременности связано с действием внутрияичниковых факторов роста: эпидермального (ЭФР) и трансформирующего (ТФР- α) путем снижения чувствительности рецепторов клеток гранулы фолликулов к ФСГ [12]. Кроме того, рост третичных фолликулов подавляется во время беременности ингибинами, которые синтезируются плацентой. Высокие значения максимальных диаметров вторичных фолликулов в яичниках неполовозрелых самок, отмеченные нами в 2004 г. (пик), по сравнению с таковыми в 2006 г. (рост) свидетельствуют об изменении динамики численности популяции рыжей полевки в изучаемом районе. В результате многолетних отловов рыжей полевки в Висимском заповеднике до 2006 г. был установлен 3-летний цикл популяционной динамики численности, характеризующийся фазами цикла: депрессия, рост и пик. В 2006 г. в Висимском заповеднике квазитрехлетняя динамика заменялась квазидвухлетней [5]. Предпосылки подобного явления можно было наблюдать уже в 2004 г., исследуя интенсивность фолликулогенеза у неполовозрелых животных.

Таким образом, выявленная нами межгодовая морфофункциональная изменчивость гонад у рыжей полевки в оптимальных условиях обитания связана с колебаниями численности популяции. Наиболее выраженные деструктивные изменения в семенниках размножающихся животных выявлены в фазе пика численности популяции, что свидетельствует о снижении их репродуктив-

ной активности. У неполовозрелых зверьков отмечено торможение полового созревания. В течение репродуктивного периода функциональное состояние гонад и процессы размножения определяются, главным образом, внутривидовыми факторами. При анализе влияния антропогенных и других факторов окружающей среды на гонады следует учитывать экологические (фазы численности популяции), способные модифицировать любые воздействия на экосистему.

ЛИТЕРАТУРА

1. Волкова О.В., Боровая Т.Г. Методы количественного анализа в оценке морфофункционального состояния яичника // *Арх. анат.* 1990. Т. 99, вып. 11. С. 81–84.
2. Жигальский О.А., Кшняев И.А. Популяционные циклы европейской рыжей полевки в оптимуме ареала // *Экология.* 2000. Вып. 5. С. 383–390.
3. Захидов С.Т., Гопко А.В., Маршак Т.Л. и др. Изучение сперматогенеза у мышей с ускоренным старением // *Изв. РАН. Сер. биол.* 2007. Вып. 6. С. 661–668.
4. Зенкина В.Г. Значение апоптоза в яичниках при развитии некоторых заболеваний репродуктивной системы // *Фундаментальные исследования.* 2001. Вып. 6. С. 227–230.
5. Кшняев И.А., Давыдова Ю.А. Закономерности и особенности динамики населения мелких млекопитающих в Среднеуральской южной тайге // *Современное состояние и перспективы развития ООПТ Урала: Материалы научно-практической конференции.* Екатеринбург: ООО УИПЦ, 2011. С. 168–176.
6. Стадников А.А., Шевлюк Н.Н., Козлова А.Н. Роль гипоталамо-гипофизарной нейросекреторной системы в реализации клеточного и тканевого гомеостаза про- и эукариотов // *Морфология.* 2012. Т. 141, вып. 3. С. 149.
7. Шварц С.С. Метод морфофизиологических индикаторов в экологии наземных позвоночных. Свердловск: Изд-во РИСО ИНФ АН СССР, 1968.
8. Шевлюк Н.Н., Блинова Е.В., Боков Д.А. Сравнительная морфофункциональная характеристика органов репродуктивной системы мелких млекопитающих в условиях антропогенной трансформации степных экосистем Южного Урала // *Морфология.* 2013. Т. 144, вып. 5. С. 40–45.
9. Шевлюк Н.Н., Блинова Е.В., Боков Д.А. и др. Механизмы сезонного изменения активности сперматогенеза у животных с сезонным характером репродуктивной активности // *Морфология.* 2014. Т. 145, вып. 3. С. 221.
10. Шевлюк Н.Н., Елина Е.Е. Биология размножения обыкновенной слепушонки *Ellobius talpinus*. Оренбург: Изд-во ОГПУ, 2008.
11. Чернявский Ф.Б., Лазуткин А.Н. Циклы леммингов и полевков на Севере. Магадан: Изд-во ИБПС ДВО РАН, 2004.
12. Mason H., Carr L., Leake R. et al. Production of transforming growth factor- α by normal and polycystic ovaries // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1995. Vol. 80, № 7. P. 2053–2056.

Поступила в редакцию 15.08.2016

Получена после доработки 27.12.2016

INTERANNUAL MORPHOLOGICAL VARIABILITY OF THE GONADS OF THE EUROPEAN BANK VOLE IN OPTIMAL HABITAT CONDITIONS

V.P.Mamina, Ye.A.Baytimirova

Using histological and morphometric methods, the organs of the reproductive system were studied in 160 male and 71 female Bank vole inhabiting the forests of the Visim state biosphere reserve, in the years of low, growing and peak population size. In the animals studied, the interannual morphological variability of the gonads was detected, which was associated with the fluctuations in population size. At the peak of population size, the

destruction of the spermatogenic layer was noted, together with the reduction in the diameter of the seminiferous tubules, the area of interstitial endocrinocytes and sustentocytes, indicating an inhibition of germ functions of the testis and a decrease of its endocrine function. In the ovaries from pregnant females in the peak phase of the population, a decrease in the follicle size was observed. Interannual variability of the size of the follicles in immature females may have prognostic value for assessing changes in population size.

Key words: *testis, interstitial cells, sustentocytes, ovary, follicle*

Laboratory of Population Ecology and Modeling, Laboratory of Functional Ecology of terraneous animals, Institute of Plant and Animal Ecology, RAS Ural Division, Yekaterinburg

© Я.Р.Мацюк, Е.Ч.Михальчук, Л.С.Кизюкевич, 2017
УДК 591.463.2:618.2:616.36-008.811.6:599.323.4

Я.Р.Мацюк, Е.Ч.Михальчук, Л.С.Кизюкевич

СТРУКТУРА СЕМЕННИКОВ КРЫС, РАЗВИВАВШИХСЯ В УСЛОВИЯХ ХОЛЕСТАЗА У МАТЕРИ, ОСОБЕННОСТИ ИХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК И РАЗВИТИЯ ПОТОМСТВА

Кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии (зав. — проф. С.М.Зиматкин), УО «Гродненский государственный медицинский университет», МЗ Республики Беларусь

Изучение беспородных белых крыс, у матерей которых на 17-е сутки беременности моделировали подпеченочный обтурационный холестаз, обнаружило изменения в семенниках, которые выявлялись даже по достижении ими половозрелости. Отмечены отеки интерстиция, уменьшение числа интерстициальных клеток, задержка спирализации извитых семенных канальцев. В последних снижается толщина слоя сперматогенного эпителия за счет уменьшения количества сперматогенных клеток с развитием в них деструктивных изменений, отрицательно влияющих на процесс сперматогенеза. Оплодотворяющая способность таких самцов снижена до 42,9%, удлиняются сроки развития их потомства, уменьшается число крысят в помете (с наличием среди них мертворожденных). В ранний срок постнатального периода происходит задержка прироста их массы и физического развития.

Ключевые слова: *семенники, развитие, холестаз, оплодотворяющая способность, потомство*

В структуре неблагоприятных социальных, экологических, медико-биологических и других факторов [6] особое место занимают заболевания гепатобилиарной системы, нередко у беременных сопровождаемые холестазом, что приводит у родившегося в этих условиях потомства к отста-

ванию в физическом развитии, снижению резистентности и нарушению органогенеза [5, 8, 9]. Не являются исключением при этом и органы половой системы. Согласно современным представлениям репродуктологии, мужскому фактору в структуре бесплодия уделяется большое вни-

Сведения об авторах:

Мацюк Ярослав Романович, Михальчук Елена Чеславовна (e-mail: milena6519@mail.ru), Кизюкевич Леонид Стефанович (e-mail: msbiology@mail.ru), кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии, УО «Гродненский государственный медицинский университет», 230009, Беларусь, г. Гродно, ул. Горького, 60