

Е. Ф. ПАВЛОВ, А. А. ЧИЛИНГАРЯН, Р. Н. САРКИСОВ, В. Э. ЛЕОНОВИЧ

МОДЕЛИРОВАНИЕ НЕКОТОРЫХ ОТКЛОНЕНИЙ СПЕРМАТОГЕНЕЗА, НАБЛЮДАЮЩИХСЯ У ГИБРИДОВ ПТИЦ

В предыдущем сообщении [2] была показана возможность получения завершенного сперматогенеза у бесплодных межвидовых гибридов, полученных от скрещивания ♀ мускусной × ♂ пекинской утки, в условиях трансплантации семенника гибрида в нормальный организм пекинского селезня.

Среди многочисленных форм бесплодия, встречающихся у гибридов птиц, этот случай является одним из наименее сложных, так как особенностью репродуктивной функции гибридных уток является: у самцов—остановка сперматогенеза на стадии сперматоцитов 1-го порядка, при нормальных размерах семенников, у самок—откладка яиц уменьшенных размеров с зародышевыми дисками, прекращающими развитие в начальных стадиях инкубации.

Одной из форм, характеризующихся более глубокими нарушениями воспроизводительной функции, являются гибриды, полученные от реципрокных скрещиваний кур с цесарками. По нашим и многочисленным литературным данным, все полученные курино-цесариные гибриды в большинстве случаев являются самцами. Наблюдения за развитием половых желез у гибридов указывают на то, что развитие семенников протекает нормально до 2—2,5-месячного возраста, затем оно прекращается, и семенники взрослых гибридных особей на протяжении последующего онтогенеза сохраняют указанное состояние. Гистологическая картина семенников взрослых гибридов характеризуется наличием герминативного эпителия, сперматогоний, расположенных в один-два ряда, и отсутствием последующих форм клеток, характерных для нормально протекающего сперматогенеза. Особенностью таких семенников является отсутствие просветов в канальцах.

Материал и методика. В работе были использованы петухи породы русская белая в возрасте 4,5 мес. и курино-цесариные гибриды того же возраста. Для пересадки семенников использовалась описанная ранее [2] хирургическая методика.

Спустя 7 мес. после пересадок подопытные птицы были подвергнуты аутопсии. Прижившиеся трансплантаты извлекались из брюшной полости, фиксировались и обрабатывались гистологически.

Культивирование клеток семенников петухов того же возраста проводилось по общепринятой методике с предварительной трипсинизацией ткани и последующим использованием сред 199 или гидролизата лактальбумина с добавлением 10%-ной бычьей сыворотки. В обеих средах тестикулярная ткань давала хороший рост.

Экспериментальная часть и обсуждение. Реципрокные пересадки семенников были осуществлены на четырех курино-цесариных гибридах и четырех петухах. Петухи и гибриды попарно одновременно оперировались и каждому из них в брюшную полость помещали от 4 до 44 кусочков семенника (в зависимости от размеров тестикулов), объемом 30—50 мм³.

По истечении семи месяцев все прооперированные птицы были подвергнуты аутопсии. Вскрытие показало, что на петлях тонкого отдела кишечника, брыжейке и брюшине двух курино-цесариных гибридов успешно прижилось 8 трансплантатов куриных семенников. Размеры прижившихся трансплантатов колебались в пределах от величины гречневого зерна до величины горошины. Если учесть, что четырем гибридам было пересажено 137 кусочков семенников петуха, то успешная трансплантация прошла примерно в 6% случаев.

Полученные методом отпечатков в момент аутопсии мазки от трех из восьми трансплантатов (при микроскопировании) показали наличие небольшого количества живых, внешне нормальных сперматозоидов с поступательным движением.

Гистологическая обработка трансплантированных кусочков показала наличие двух типов реакций нормального спермиогенного эпителия петуха в гибридном организме. В одном случае развитие спермио-

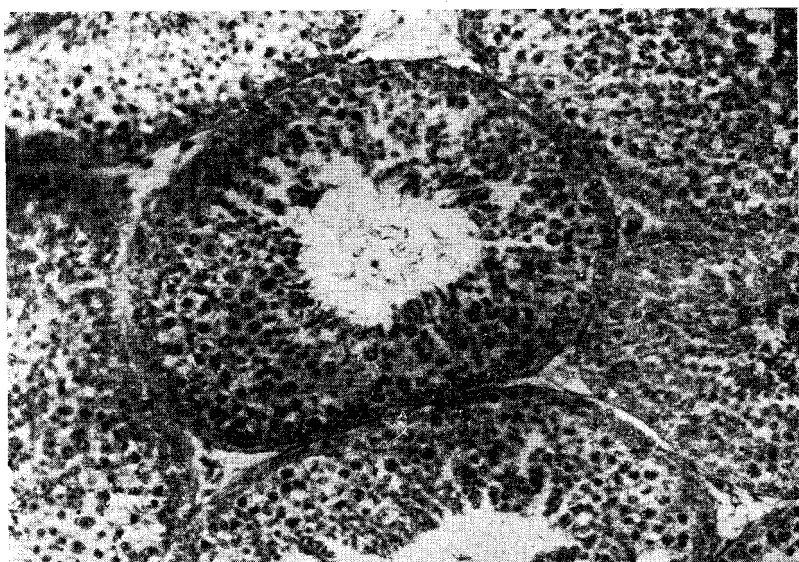


Рис. 1. Сперматогенез в семеннике петуха, трансплантированного курино-цесариному гибриду. Гематоксилин-эозин. Об. 20× Ок.—гомаль 2.

генного эпителия достигало завершенного сперматогенеза, включающего все стадии, вплоть до образования зрелых спермиев, обнаруживаемых в просветах канальцев (рис. 1). Во втором случае было отмечено увеличение размеров трансплантатов при гистологической картине, ука-

зывающей на простое размножение спермиогенного эпителия без перехода к сперматогенезу (рис. 2). Между этими крайними вариантами заключена гамма, отражающая постепенный переход от нормального сперматогенеза к полному его отсутствию.

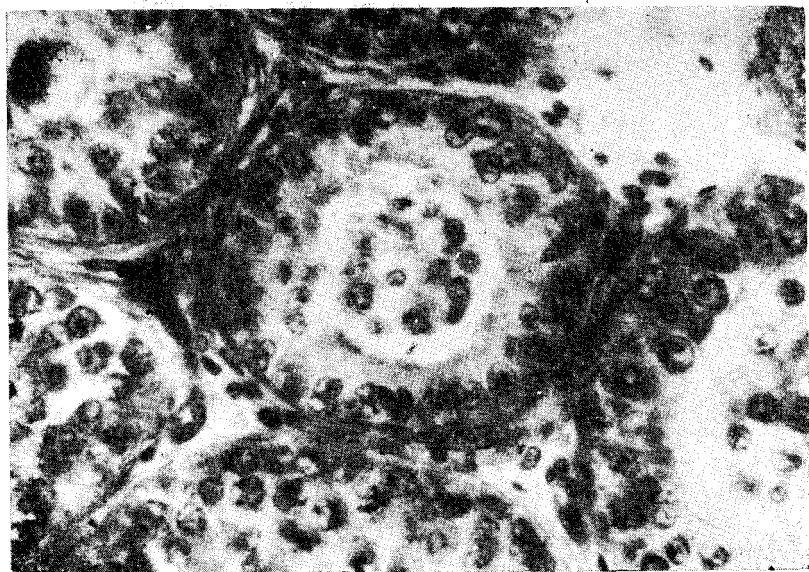


Рис. 2. Остановка развития в семеннике петуха, трансплантированного курино-цесариному гибриду. Гематоксилин-эозин. Об. 60 × Ок.—гомаль 2.

Одним из промежуточных состояний является фаза образования полинуклеаров в семенных канальцах трансплантатов (рис. 3). Этот момент заслуживает особого внимания, так как одной из характерных особенностей нарушения генеративной функции у гибридов птиц является замещение нормального сперматогенеза образованием полинуклеаров в стадии формирования сперматоцитов I порядка [3, 4, 7].

Из пересаженных 49 кусочков семенников гибридов при аутопсии было обнаружено три дегенерирующих трансплантата, что составляет около 6% случаев приживления. Обнаруженные трансплантаты не превышали размеров гречневого зерна и по величине были близки к кусочкам в момент их трансплантации. Гистологический контроль показал, что основная масса трансплантата состоит из соединительной ткани.

Случаи завершенного сперматогенеза дают основание рассматривать организм гибрида-реципиента как биологическую систему, обеспечивающую минимальный рост трансплантата и умеренное течение сперматогенеза при детерминирующем влиянии генетической программы зародышевых клеток трансплантата и физиологического гемиостаза клеток.

Вторая группа трансплантатов, характеризующаяся отсутствием сперматогенеза и по гистологической картине сходная с интактными семенниками курино-цесариных гибридов, казалось бы, свидетельствует

о наличии условий, позволяющих гибридному организму подавить автогенетические механизмы нормального семенника петуха и направить его по пути развития, характерного для собственных половых желез гибрида. Однако первый случай с завершенным сперматогенезом делает маловероятным высказанное соображение и поэтому, на данном этапе исследований, случаи отсутствия сперматогенеза в трансплантатах правильнее рассматривать как результат существенного нарушения их трофики, являющегося следствием хирургического вмешательства.

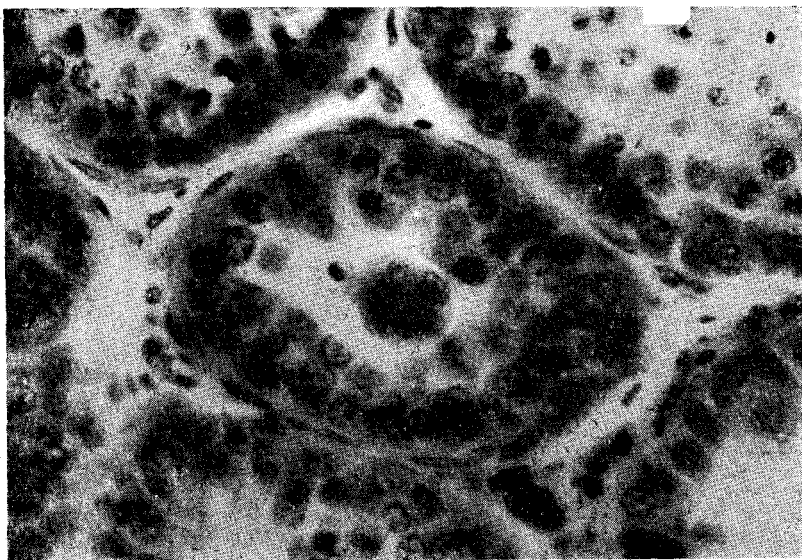


Рис. 3. Полинуклеар в семенном канальце петуха. Трансплантат из организма курино-цесариного гибрида. Гематоксилин-эозин. Об. 60 X Ок. — гомаль 2.

И, наконец, третий промежуточный тип реакций трансплантатов, включающий в себя целую гамму переходных состояний от завершеного сперматогенеза к его отсутствию, также говорит в пользу влияния факторов, привносимых используемыми методиками, на конечный результат.

Вероятность высказанного предположения достаточно хорошо может быть показана на примере массового образования полинуклеарных клеток на стадии сперматоцитов I порядка. Выше уже отмечалось, что подобное отклонение в сперматогенезе характерно для многих межвидовых гибридов птиц. Появление атипичного сперматогенеза в нормальных семенниках петуха, развивающихся в гибридном организме, позволяет дать, по крайней мере, два толкования механизму возникновения данной аномалии. Одно из них, как указывалось выше, связано с особенностями методики, второе могло бы явиться выражением влияния биологических особенностей гибридного организма реципиента на течение сперматогенеза в семеннике донора.

В целях проверки высказанных предположений была поставлена серия экспериментов с выращиванием *in vitro* клеток семенника в монослойной культуре. Проводимые от 2-х до 22-х дней наблюдения за ростом культуры показали, что начиная со второго дня отмечается два типа роста сперматоцитоподобных клеток. Один тип характеризуется образованием гигантских одноядерных клеток, размеры которых зачастую превосходят крупные клетки, обычно встречаемые в культуре тканей (рис. 4). Количество таких клеток от общего числа сперматоцитоподобных клеток в отдельные дни культивирования достигает 10—16%. Характерной особенностью роста этого типа клеток является непрерывное изменение ядерно-цитоплазматического отношения за счет более интенсивного роста ядра, которое к концу жизненного цикла клетки составляет основную массу ее объема.

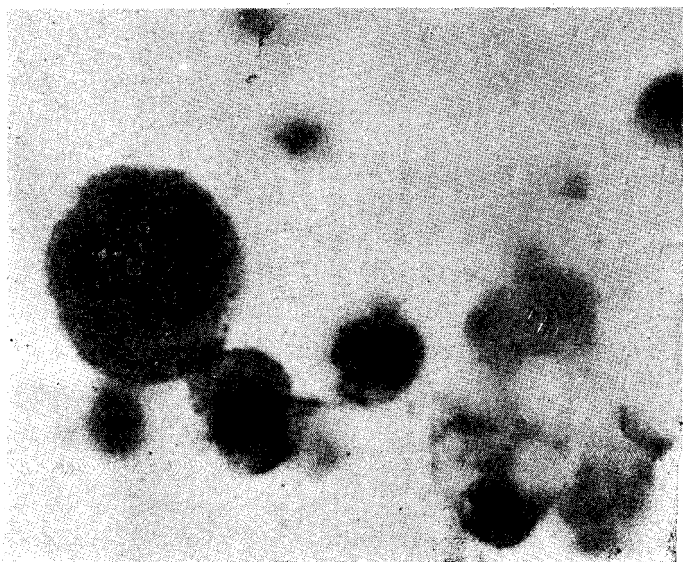


Рис. 4. Гигантский мононуклеар из тканевой культуры семенника петуха. Гематоксилин-эозин. Об. 90 × Ок.—гомаль 2.

Второй тип развития сперматоцитоподобных клеток в культуре ведет к образованию полинуклеаров, весьма сходных с многоядерными клетками, встречающимися в семенниках гибридов, полученных от скрещивания пекинской и мускусной уток (рис. 5), [3].

Количественная характеристика частоты встречаемости полинуклеаров в монослойной культуре семенника представлена в таблице.

Из таблицы видно, что количество полинуклеаров в отдельные дни культивирования сравнительно постоянно и колеблется от 9 до 16%. Исключение составляет начальная стадия роста культуры, приходящаяся на второй день. Наиболее часто в культуре встречаются полинуклеары, имеющие от двух до шести ядер. Клетки с большим количеством

ядер наблюдаются в единичных случаях. Максимальное количество ядер, отмеченное в таких клетках, достигало 18.

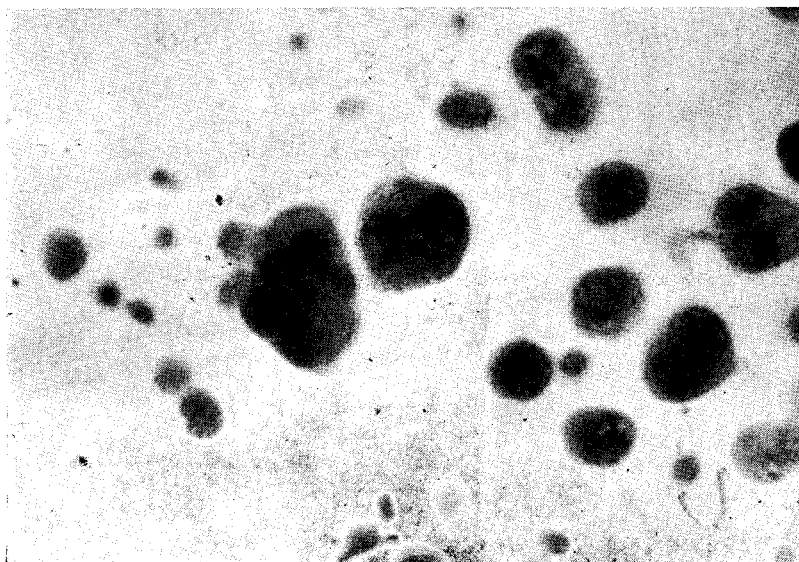


Рис. 5. Полинуклеары из тканевой культуры семенника петуха. Гематок-
силлин-эозин. Об. 90 × Ок.—гомаля 2.

Таблица

Количество полинуклеаров в отдельные дни культивирования

Дни культи- вирова- ния	Всего под- считано сперматоци- топодобных клеток	Из них с числом ядер в клетке						Всего полину- клеаров	В % к об- щему числу сперматоци- топодобных клеток
		1*	2	3	4	5	6		
II	664	640	11	13	—	—	—	24	3,1
III	183	166	—	6	6	3	2	17	9,3
V	1037	931	60	32	13	1	—	106	10,2
VI	1006	907	54	29	12	3	1	99	9,8
X	98	87	4	4	2	—	1	11	11,2
XII	43	36	3	4	—	—	—	7	16,3
XVII	47	41	—	2	3	1	—	6	12,8
XX	282	257	9	4	7	4	1	25	9,0

* Включая гигантские мононуклеары.

Сопоставление приведенных экспериментальных данных с доступ-
ными литературными источниками позволяет говорить о том, что опи-
санные два типа роста сперматоцитоподобных клеток в культуре до сих
пор мало привлекали исследователей. Так, в работе Ферриса и Плов-
райта [6], проведенной на семенниках лошадей, крупного рогатого скота,
свиней, овец и кошек, совершенно не упоминаются особенности роста,
описанные нами. Сходное положение отмечается в статьях Залкинда.

Рапопорта, Дорофеева [1] и Цыпкина [5], работавших с семенниками обезьян. И лишь Смит [8], культивировавший семенники в виде кусочков, а не монослоя, в зоне роста отмечает наличие (по его терминологии) гигантских мононуклеаров и некоторое количество многоядерных половых клеток.

Таким образом, материалы по получению полинуклеаров из сперматоцитоподобных клеток в тканевой культуре свидетельствуют о том, что нарушение трофики и коррегирующего влияния организма приводит к переходу части сперматоцитов от мейотического деления к образованию многоядерных клеток. На наш взгляд, факты появления полинуклеаров в семенниках гибридных уток, в тестикулярных трансплантатах петуха в организм курино-цесариных гибридов и в монослойной культуре, а также восстановление нормального сперматогенеза в семенниках гибридных уток после трансплантации их в организм нормального пекинского селезня, с одной стороны, позволяют говорить о стереотипной реакции ядер сперматоцитов на существенные колебания среды, с другой стороны,—указывают на возможность моделирования, а следовательно, и управления этим процессом. Характер использованных методик, воздействующих непосредственно на целостный организм или на изолированные ткани и клетки, указывает на большую зависимость появления полинуклеаров от экстрацеллюлярных факторов.

З а к л ю ч е н и е

Нормальные семенники петуха, трансплантированные в организм *курино-цесарных гибридов*, дают большую гамму различных функциональных состояний начиная от нормального сперматогенеза и кончая полным его отсутствием.

Одной из промежуточных форм реакций трансплантированного семенника петуха является образование полинуклеаров, характерных для целого ряда гибридных форм, получаемых в результате естественного скрещивания.

Успешная попытка моделирования процесса получения полинуклеаров в монослойной культуре показала полную возможность воспроизведения этого феномена *in vitro*.

Сопоставление всего комплекса экспериментальных фактов, обсуждаемых в настоящем сообщении, позволяет считать установленным, что основные причины, лежащие в основе нарушений, приводящих к образованию полинуклеаров, носят трофический характер и в значительной мере связаны с нарушениями метаболизма гибридных организмов или же являются побочным следствием применяемых методик.

Ե. Յ. ՊԵՂՈՎ, Ա. Հ. ԶԻՆԴԻԱՐՅԱՆ, Ռ. Ն. ՍԱՐԿԻՍՈՎ, Վ. Է. ԼԵՆՆՈՎԻՉ

**ԹՈՉՈՒՆՆԵՐԻ ՀԻՔՐԻԳՆԵՐԻ ՄՈՏ ԴԻՏՎՈՂ ՍՊԵՐՄԱՏՈԳԵՆԵԶԻ ՈՐՈՇ
ՇԵՂՈՒՄՆԵՐԻ ՄՈԴԵԼԸ**

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Մշկաբաղ-պեկինյան և խալտաճավ-ճավերի հիբրիդները բացառապես ամուլ են: Բայց եթե առաջինների մոտ սպերմատոգենեզը շարունակվում է և կանգ է առնում առաջին կարգի սպերմատոցիդների ստադիայում, ապա երկրորդ ձևերի մոտ վերարտադրական ֆունկցիայի խախտումը ավելի ուժեղ է արտահայտվում՝ բացակայում են մինչև անդամ սպերմատոգենեզի ավելի վաղ փուլերը:

Նախորդ էքսպերիմենտում [2] ցույց էր տրված, որ բաղային հիբրիդի սերմնարանների փոխադրումը պեկինյան բաղի մոտ ավարտվում է լիարժեք սպերմատոգենեզով:

Սույն փորձի նպատակն էր աբլորի և խալտաճավ-ճավերի հիբրիդի սերմնարանների հակադիր փոխադրման միջոցով պարզել սերմնարանների հետագա վիճակը նոր միջավայրի պայմաններում:

Փորձերը ցույց տվին, որ խալտաճավ-ճավային հիբրիդների սերմնարանները, փոխադրված աբլորի մոտ, վերածնվում են շարակցական հյուսվածքի և զարգացում տեղի չի ունենում: Աբլորի նորմալ սերմնարանների փոխադրումը խալտաճավ-ճավ հիբրիդների մոտ, վերջինիս ազդեցության տակ, սերմնարաններում առաջանում են մի շարք հաջորդական փոփոխություններ՝ սկսած նորմալ սպերմատոգենեզից մինչև վերջինիս բացակայությունը: Այդ երևույթը զուգակցում է պոլինուկլեարների առաջացման, որ յուրահատուկ է հեռավոր հիբրիդների համար: Լաբորատոր պայմաններում նույնանման ֆենոմենն ստացված է նաև *in vitro* աբլորից ստացած սերմնարանի միաշերտ կուլտուրայից:

Հեղինակների կարծիքով, այդ երևույթը (պոլինուկլեարների առկայությունը) երևի արոֆիկ բնույթ ունի և բխում է հիբրիդ ձևերի ուրույն մետաբոլիզմից: Ինչ խոսք, որ այդ եզրակացությունը պահանջում է էքսպերիմենտալ փաստարկում:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Залкинд С. Я., Рапопорт Р. И., Дорофеев В. М. Цитология, 6, 1, 81, 1964.
2. Павлов Е. Ф., Чилингарян А. А., Саркисов Р. Н., Мкртчян Л. П. Генетика, 7, 61, 1966.
3. Павлов Е. Ф., Чилингарян А. А., Саркисов Р. Н. К онтогенезу гибридов. Зоологический сборник АН АрмССР, вып. XIV, 105, 1966.
4. Треус В. Д., Стекленив Е. П., Волков С. А., Андриевский И. В. Укр. н-и. ин-т животноводства им. М. Ф. Иванова, «Аскания-Нова». Научные труды, 13, 107, 1963.
5. Цыпкин Л. Б. Бюлл. экпер. биол. и медиц., 55, 3, 96, 1963.
6. Ferris R. D., Plowright W. J. Pathol. Bacteriol., 75, 2, 313, 1958.
7. Poll H., Tiefensee W. Ztschr. Ges. nat. Freunde, 6, 157, 1907.
8. Smith A. G. Laboratory Invest., 7, 68, 1958.