

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЯ

Н. ДИОМИДОВА

ЗАКОНОМЕРНОСТИ СПЕРМАТОГЕНЕЗА КРЫСЫ ВНЕ ОРГАНИЗМА

(Представлено академиком И. И. Шмальгаузенем 19 V 1940)

За последние 10 лет появилось много исследований сперматогенеза у млекопитающих в культурах ткани. Большинство работ сводилось к изучению судьбы отдельных участков семенника в культурах и, главным образом, зоны роста этих культур. Авторы отмечали также трансформацию сперматогоний и сперматидов⁽¹⁾ и поведение сертолиевого слоя, способного образовывать рыхлые сетевидные структуры⁽²⁾ или округляться и фагоцитировать в культурах⁽³⁾. Гайар и Вароссио⁽⁴⁾, изучая судьбу кусочков семенника в культурах до 10 дней, установили, что семенники незрелых крыс проявляют больше явлений дифференцировки, чем семенники от старых животных. Ткань незрелых крыс дает увеличение недифференцированных клеток семенника и новообразование сперматид. Мартинович^(5, 6) культивировал до 22 дней в условиях влажной камеры целые семенники новорожденных крыс и мышей и наблюдал развитие семенных клеток от сперматогоний до сперматоцитов в пахитенной стадии мейоза.

Целью настоящей работы было изучить общие закономерности сперматогенеза в целом семеннике вне организма. Поэтому все внимание было обращено на состояние семенных клеток, способность их к размножению и трансформации, а также на судьбу слоя Сертоли.

Методика была заимствована из работы Фелл и Робисон⁽⁷⁾ и сводилась к культивированию целых органов в условиях влажной камеры. Наблюдения за переживанием культур длились до 29 дней. Фиксация семенников проводилась по Штиве и Карнуа. Срезы готовились на 8—10 μ и красились гематоксилином Карацци или Гайденгайна с докраской эозином. Окрашенные срезы подвергались статистической обработке. На четырех срезах, взятых с каждого пятого стекла, производился подсчет общего числа перерезов канальцев на различных стадиях развития семенных клеток. О степени развития канальцев я судила по характеру клеток, расположенных около просвета. Полученные цифры для каждой стадии вычислялись в процентах к общему числу перерезов канальцев данного семенника, потом биометрически обрабатывались с вычислением среднего и ошибки среднего. Всего было изучено 66 семенников и учтено 38 900 перерезов канальцев.

В качестве материала служили неполовозрелые семенники белых крыс в возрасте 30—40 дней. Менее дифференцированные семенники новорожденных крыс уже изучались Мартиновичем. На срезах контрольных семенников было видно, что канальцы тесно прилегают друг к другу.

Полости канальцев хорошо выражены. Сертолиев слой очень богат ядрами. Плазма сертолиева слоя представлена в виде сетчатой протоплазматической массы, в которую включены все виды семенных клеток. Начиная с периферии канальца между ядрами сертолиева слоя, находятся сперматогонии, среди которых можно встретить различные стадии каркинетического деления. Затем наблюдаются первичные сперматоциты. За ними вглубь к центру канальца располагаются сперматоциты I порядка. Там же можно различать клетки с крупными фигурами первого деления созревания и мелкие клетки в стадии второго деления созревания. Сперматиды, небольшие клетки с пузырьвидным ядром, бедным хроматином, собраны в несколько слоев вокруг просвета канальца и, наконец, разнообразны переходы от сперматиды к образующейся головке сперматозоида.

Изучение семенников показало, что процент канальцев со сперматидами и делящимися сперматоцитами закономерно сохраняется во всех отдельных семенниках, что указывает на присутствие определенного ритма сперматогенеза.

Я распределила весь исходный материал на 4 группы разной зрелости и вычислила среднее и его ошибку для числа канальцев на стадии сперматид и делений созревания каждой группы (см. табл. 1). Систематизированный таким образом материал показал, что развитие зачатковых клеток в герминативном эпителии семенников происходит с определенной скоростью. Количество сперматид и сперматоцитов в состоянии деления представляет собой величины, довольно постоянные для каждой группы. Процентное содержание различно дифференцированных семенных клеток колеблется от степени зрелости гонад, сохраняя в общем ритм сперматогенеза.

Таблица 1

	№ группы	Контроль	Культуры	Разность средних
Сперматиды	I	2,6±0,84	36,2±9,5	33,6±9,5
	II	39,7±3,14	62,8±6,7	23,1±7,4
	III	65,8±1,01	63,5±4,2	2,3±4,32
	IV	69,1±3,23	70,6±2,4	1,5±4,0
Деление созревания	I	0,6±0,15	1,6±0,93	1,0±0,94
	II	3,5±0,6	2,6±0,46	0,9±0,75
	III	2,9±0,3	2,7±0,3	0,2±0,3
	IV	4,4±0,57	3,6±0,36	0,8±0,67

Опытные семенники, находясь в культурах, в известной степени деформируются, но это не мешает течению основных процессов сперматогенеза внутри них.

Межканальцевые пространства теряют свои очертания и заметно увеличиваются, очевидно, за счет сокращения канальцев. Оболочка канальцев часто нарушается, и в этих участках происходит дегенерация слоя Сертоли и близ лежащих зачатковых клеток образуются пустоты. Просветы канальцев исчезают или резко суживаются. Ядра Сертоли округляются и производят впечатление начинающегося в них пикноза. Плазма слоя Сертоли сохраняется только около ядер, а среди семенных клеток она полностью редуцируется.

Среди сперматогоний неоднократно наблюдались различные стадии митотического деления. Первичные сперматоциты чаще других проявляют признаки дегенерации. Период роста сперматоцитов и первое деление

созревания протекают совершенно так же, как и в контроле. Стадии метафазы и телофазы прекрасно видны на срезах. Сперматоциты II порядка в состоянии интеркинеза и второе деление созревания наблюдаются несколько реже первого деления. Имеет место новообразование сперматид. Сперматиды, вступившие в трансформацию образования головок спермиев, в условиях культуры дегенерируют, и образования спермиев не происходит.

Семенники, культивируемые вне организма, были обработаны по тем же группам, что и в контроле. Из табл. 1 видно, что закономерное соотношение клеточных форм, меняющееся от степени зрелости гонады и отмеченное в контроле, вполне сохраняется в культурах семенников. Если в контроле для сперматид и делений созревания отмечаем восходящий ряд от I к IV группе, то и в культурах наблюдается повторение того же изменения процента канальцев со сперматидами и делением созревания.

В I и II группах имеет место дифференцировка гонад, на что указывает увеличение сперматид в опытных семенниках по сравнению с контролем.

Фиксация культур семенников производилась на 9-й, 14-й, 17-й и 25-й день. Так как была отмечена разница в поведении различно дифференцированных семенников в культурах, то I и II группы рассматривались как менее развитые и III и IV группы как более зрелые. Из табл. 2 следует, что количество сперматид в менее зрелых семенниках на 17-й день культивирования продолжает еще увеличиваться. Процент канальцев с делением созревания сперматоцитов не изменяется от длительности нахождения вне организма.

Таблица 2

	Длительность культур	Контроль	Культуры	Разность средних
Менее зрелые семенники				
Сперматиды	9 дней	22,05 ± 10,93	47,3 ± 13,5	25,25 ± 17,3
	14 »	44,7 ± 6,3	63,0 ± 9,8	18,3 ± 11,6
	17 »	43,5 ± 13,5	65,8 ± 13,6	42,3 ± 13,6
	25 »	49,3 ± 15,5	36,9 ± 4,14	17,6 ± 15,9
Деление созревания	9 дней	1,9 ± 0,98	1,5 ± 0,94	0,4 ± 1,36
	14 »	4,3 ± 1,04	2,6 ± 0,75	1,7 ± 1,28
	17 »	0,9 ± 0,56	2,3 ± 1,9	1,4 ± 1,98
	25 »	2,2 ± 1,7	2,9 ± 1,2	0,7 ± 2,08
Более зрелые семенники				
Сперматиды	9 дней	68,0 ± 4,07	68,5 ± 2,47	0,5 ± 4,76
	14 »	65,7 ± 2,6	66,9 ± 4,5	1,2 ± 5,1
	17 »	70,2 ± 2,39	70,9 ± 2,52	0,7 ± 3,46
Деление созревания	9 дней	4,1 ± 0,5	3,6 ± 0,45	0,5 ± 0,67
	14 »	4,1 ± 1,02	2,9 ± 0,4	1,2 ± 1,09
	17 »	3,4 ± 0,82	2,6 ± 0,59	0,8 ± 1,01

В более дифференцированных семенниках никакого увеличения канальцев со сперматидами в течение 17 дней не происходит. Деление созревания встречается одинаково как в контрольных, так и в опытных семенниках. Клетки в начальных стадиях образования спермиев во всех случаях

дегенерируют. Следовательно, можно констатировать, что длительность культивирования не влияет на изменение общего ритма сперматогенеза, но различно развитые гонады неодинаково потенциальны в культурах.

Введение в среду культур экстракта зрелого семенника не оказало почти никакого влияния на ход сперматогенеза: образование сперматоцитов, деление созревания, образование сперматид и задержка дальнейшей их трансформации происходят одинаково в культурах как с экстрактом, так и без экстракта. Слабое действие экстракта проявляется в частичном сохранении, в некоторых участках канальцев, плазмы слоя Сертоли.

Поставленные дополнительно опыты с различной температурой для культур семенника не дали никаких положительных результатов в отношении трансформации сперматид. Эти опыты показали, что первые стадии сперматогенеза протекают в условиях культуры тканей одинаково как при 30°, так и при 37°.

Изменение температуры, возможно, имело бы решающее значение в культурах ткани при наличии целости слоя Сертоли.

При культивировании семенников часть плазмы слоя Сертоли гибнет и этим нарушаются нормальные условия для перемещения семенных клеток. Задержка сперматид в центре канальца влечет за собой нарушение связи с периферическим слоем синцития, где происходит по Рего (8) (1904) образование продуктов секреции сертолиевого слоя, что и ведет к гибели трансформирующихся сперматид.

Условия, обеспечивающие нормальный сперматогенез внутри организма, зависят от различных факторов. Регулярное кровоснабжение и иннервация органа, влияние эндокринных желез и соответствующая терморегуляция—все это достигается благодаря участию всего организма в целом. В условиях же культуры, внутри изолированного органа, лишено всяких взаимодействий с организмом, течение начальных стадий сперматогенеза происходит с той же скоростью, как и внутри организма. Очевидно, сперматогенез зависит не от факторов организма, являющихся в данном случае внешними факторами, а обуславливается влиянием внутренних факторов, находящихся внутри самого семенника. На ход сперматогенеза *in vitro*, возможно, могут влиять продукты распада клеточных элементов внутри канальцев, которые имеются в избытке в культивируемых семенниках. Проведение дополнительных опытов с культурами изолированных семенных канальцев, где исключается влияние и этого фактора, показали, что сперматогенез там ограничивается в основном делением сперматогоний. Отсюда можно наметить известную автономность отдельных этапов сперматогенеза.

Для деления сперматогоний достаточно условий, имеющихся внутри изолированного семенного канальца. Последующие стадии созревания сперматоцитов и образование сперматид осуществляются лишь в целом семеннике *in vitro*. Окончательное созревание семенной клетки: трансформация сперматид и образование сперматозоида требуют, очевидно, совокупности условий целого организма.

Институт экспериментальной биологии
Академии Наук СССР

Поступило
19 V 1940

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Ch. Champy et M. Morita, Arch. f. exp. Zellforsch., B. V, H. 3/4 (1928).
² W. Michailoff, Z. Zellforsch., 26, 174—201 (1937). ³ S. Esaki, Z. mikr. anat. Forsch., 15, 368—404 (1928). ⁴ P. J. Gaillard a. W. W. Varossieau, Acta Neerlandica morphologiae, 1, № 3 (1938). ⁵ P. N. Martinovitch, Nature, 139, 413, March 6 (1937). ⁶ P. N. Martinovitch, Arch. f. exper. Zellforsch., Bd XXII, H. 1 (1938). ⁷ H. B. Fell a. R. Robison, Biochem. Journ., 23, 767—784 (1929). ⁸ C. Regaud, Arch. d'Anat. microscop., IV, fasc. I, II, III (1901).