

С. М. ЦИПЕР и Д. И. ГЕНИН

О ПОЯВЛЕНИИ ГИАЛУРОНИДАЗЫ В СТЕНКЕ МАТКИ В ПРОЦЕССЕ ОПЛОДОТВОРЕНИЯ

(Представлено академиком А. И. Опариным 2 VI 1952)

Вопрос о взаимодействии между материнским организмом и мужскими половыми продуктами в последние годы привлекает большое внимание. Особенно многочисленны подобного рода исследования в области ботаники, где они проводятся на основе имеющихся в трудах И. В. Мичурина прямых указаний о влиянии пыльцы на генеративные органы растения.

Что касается животных, то воздействию мужских половых продуктов на организм самки посвящены пока лишь единичные работы. Характер отношений между живчиками и половой сферой самки исследовался только морфологически и у ограниченного числа объектов (1-3). Между тем, всестороннее изучение процессов, происходящих в период оплодотворения в организме самки, несомненно представляет огромный интерес.

В работах кафедры биологии Киевского медицинского института (2, 3), проведенных на мышах, было выяснено, что живчики, попадающие в половые пути самки, проникают во все ткани матки и яйцеводов и в дальнейшем усваиваются ими. Эти данные, полученные при помощи гистологической методики, позволяют считать, что внедряющиеся живчики вносят в ткани половой сферы ряд разнообразных веществ, как входящих в состав головки живчика, так и выделяемых им в процессе жизнедеятельности. К числу последних относится фермент гиалуронидаза.

Как показано в работах (4, 5), гиалуронидаза является обязательным компонентом семени млекопитающих, причем содержание ее здесь обусловлено присутствием живчиков. На этом основании мы предположили, что проникновение живчиков в ткани влечет за собой появление в них гиалуронидазы.

Во всех опытах применялась биохимическая методика, основанная на ферментативном снижении вязкости гиалуроната, так как она сочетает высокую чувствительность с четкими количественными показаниями*. Прежде всего были проверены матки находящихся в течковом периоде, но неосемененных мышей на присутствие в тканях органа веществ, могущих влиять на вязкость гиалуроната. Эти опыты служили контролем к основным исследованиям. В дальнейшем определялась гиалуронидазная активность экстрактов из маток осемененных самок, забитых через различные, но точно определенные сроки после coitus — от 15 мин. до

* Излагаемые ниже исследования по количественному определению гиалуронидазы в стенке матки проведены С. М. Ципер.

30 час. Таким образом исследовано 22 животных. Все они были здоровы и содержались в стандартных условиях, обеспечивающих их нормальную жизнедеятельность.

Так как гиалуронидазная активность живчиков у мышей из разных пометов может быть резко различной, подопытные животные подсаживались почти всегда к одному и тому же самцу, реже — к его родному брату, жившему с ним в одной клетке.

Постановка опытов была следующей. Забитая при помощи эфира мышь тотчас же вскрывалась. Матка разрезалась на несколько частей и промывалась физиологическим раствором. При этом каждая складка слизистой тщательно расправлялась препаровальными иглами; наличие живчиков в промывной жидкости проверялось под микроскопом. Промывка считалась законченной, если в двух последних порциях (как правило, 4-й и 5-й) живчики отсутствовали. Обязательно производилось микроскопическое исследование извлеченного из матки эякулята, отмечалось число и подвижность живчиков. Промытые кусочки матки освобождались от крупных сосудов, измельчались и растирались со стеклянным песком. Экстрагирование производилось при помощи физиологического раствора хлористого натрия (в количестве 1 мл на 50 мг ткани) при 37° в течение 30 мин.

Обычно получаемые после центрифугирования и фильтрации 1—1,5 мл экстракта делились на 2 части, из которых одна кипятилась для дальнейшего использования в качестве контроля. Реакция проводилась в присутствии $1/15$ M фосфатного буфера с рН 6,8 при 37° в течение 20 мин. Показателем гиалуронидазной активности экстракта служило увеличение скорости протекания через капилляр (т. е. уменьшение вязкости) прореагировавшей смеси из пробирок с ферментом по сравнению с контрольными. И опытные, и контрольные пробирки были всегда парными; определение скорости течения жидкости в каждой пробирке производилось 3 раза.

Таблица 1

Время с момента осеменения до забоя в часах . . .	$1/4$	1	1	2	3*	4*	$4\frac{1}{2}$	5*	6	7	8	10	13	17	20	24	30
Снижение вязкости гиалуроната в %	0	8	18	11	11	15,5	18	13,5	13	13	10	7	7	8	5	3	0

* Средние величины из нескольких опытов, в которых расхождение не превышало 2%.

Как видно из табл. 1, представляющей результаты опытов, гиалуронидазная активность маточной стенки изменяется в зависимости от времени, прошедшего с момента осеменения мыши. Через 15 мин. гиалуронидазы в стенке матки еще нет, затем ее содержание нарастает, достигая максимума к 4—5 час. после осеменения, и постепенно снижается, падая до нуля через 30 час.

В работах (2, 3) было показано, что внедрение живчиков в маточную стенку совершается с различной интенсивностью в разные сроки после осеменения. Проникновение единичных живчиков начинается уже с момента попадания эякулята в просвет матки. На протяжении первых 4—5 час. число вошедших в маточную стенку живчиков возрастает и к концу этого периода становится наибольшим. В последующие часы число живчиков, направляющихся из эякулята к стенкам органа, падает, хотя в тканях их можно обнаружить в значительном числе до 8 час. после coitus. К 12—14-му часу ни в просвете, ни в тканях органа уже не удается увидеть живчиков.

Сопоставление величины гиалуронидазной активности маточной стенки с приведенными морфологическими данными дает все основания считать, что оба эти явления стоят в прямой связи. Так, через 15 мин. после coitus, когда живчики практически еще не успели внедриться в стенку матки, гиалуронидаза здесь отсутствует. Этот опыт одновременно был для нас также и контрольным в том отношении, что если бы гиалуронидазная активность экстрактов из матки была связана не с внедрившимися живчиками, а с недостаточным полным их удалением при промывке, то именно этот экстракт должен был бы обладать наибольшей активностью. Максимальная гиалуронидазная активность — через 4—5 час. после coitus — совпадает с наблюдающимся именно в эти часы наибольшим насыщением маточной стенки живчиками.

Несколько обособленно стоит в табл. 1 случай, при котором через 1 час после осеменения мыши гиалуронидазная активность оказалась необычно высокой.

По поводу этого опыта следует отметить, что: во-первых, и это главное, он не противоречит основной линии полученных результатов — появлению гиалуронидазы в матке после осеменения; во-вторых, когда мы выше сопоставляли биохимические данные с морфологическими, мы ориентировались на типичные гистологические картины; однако не во всех случаях процесс взаимодействия живчиков с тканями матки протекает совершенно идентично; у отдельных самок он может затянуться, в связи с чем максимум внедрения живчиков наблюдается не через 4—5 час., а позже; у других, наоборот, он наступает гораздо ранее обычного срока; нередко у мышей, забитых, как и в этом опыте, через 1 час после coitus, стенка матки уже содержит большое число живчиков; в-третьих, именно у этой мыши мы имели больше оснований, чем у других, ожидать отклонения в характере реакции, так как она была спарена с самцом, до сего случая не участвовавшим в опытах; самец этот был много старше и содержался в иных условиях по сравнению с самцом, с которым проведены все прочие наблюдения.

Интересные данные получены при исследовании матки в поздние часы после осеменения. Морфологически можно различить живчики в стенке матки, как указывалось выше, не позднее 14 час. после coitus. Гиалуронидаза, однако, сохраняется здесь, хотя и в убывающем количестве, гораздо дольше. Ее можно обнаружить через 17, 20 час., в слабой степени даже через 24 часа, и только через 30 час. гиалуронидазная активность стенки матки приходит к нулю.

Эти данные показывают, что усвоение тканями матки веществ, внесенных сюда живчиками, происходит значительно позднее того времени, когда исчезают морфологические картины, свидетельствующие о внедрении живчиков в стенку матки.

Два опыта, не включенные в таблицу, протекали в необычных условиях и поэтому заслуживают отдельного обсуждения. В обоих случаях гиалуронидазная активность матки оказалась равной нулю, хотя животные были забиты через 2 и через 5 час. после coitus, когда вообще у мышей отмечалось высокое содержание гиалуронидазы.

В опыте I — через 2 часа после coitus — при вскрытии было отмечено, что матка, которая у других мышей при таких условиях бывает сильно растянутой, у этой самки не превышала по размеру обычной эстральной и была свободна от содержащегося здесь в этот период якулята. Тщательное микроскопическое исследование промывной жидкости и соскобов со стенки не обнаружило живчиков. Следовательно, есть все основания считать, что здесь имел место coitus, не сопровождавшийся эякуляцией. Подобные случаи встречались в процессе морфологического изучения оплодотворения у мыши. Этот опыт, таким образом, приобрел значение контрольного, свидетельствующего, что появление гиалуронидазы в стенке матки после coitus связано именно с внедре-

нием живчиков, а не с какими-либо другими сдвигами в обмене вещества.

В опыте II — через 5 час. после coitus — матка была наполнена эякулятом, при микроскопическом исследовании которого найдена масса живчиков, но все они были совершенно неподвижны. Очевидно, секрет маточных желез этой самки стал причиной гибели живчиков — явление, известное и в гинекологической практике. Есть все основания считать, что при таких условиях внедрение живчиков в ткани не происходит; естественно, что и гиалуронидаза в них не обнаруживается.

Таким образом, необычный результат этих опытов не только не противоречит всему ранее изложенному, но лишь подтверждает его.

Наши данные являются новым доказательством проникновения живчиков в ткани матки, устанавливаемого с помощью биохимической методики впервые. Нет сомнения, что гиалуронидаза, как и другие вещества, внесенные живчиками, усваиваясь маточной стенкой, оказывает воздействие на происходящие здесь обменные процессы и на рецепторную деятельность матки, что должно играть важную роль в жизнедеятельности материнского организма.

В литературе начала нашего столетия имеются отдельные работы, установившие наличие сдвига в обмене веществ самки в связи с осеменением (6, 7). Авторы одной из них (6) при помощи реакции Абдергальдена показали, что в крови крольчих через определенный срок после coitus появляется «защитный фермент», расщепляющий белки тестикулярной ткани. Однако такие исследования носили случайный характер и не привлекли внимания научных кругов в силу господства метафизических взглядов на оплодотворение. Лишь в советской мичуринской науке эти труднейшие биологические вопросы могут быть правильно поставлены и успешно решены с последовательных диалектико-материалистических позиций.

Поступило
10 V 1952

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ М. Я. Соловей, Тр. Лабор. искусств. осем. ВИЖ'а, 2 (1945). ² Д. И. Генин, ДАН, 75, № 6 (1950). ³ Д. И. Генин, Журн. общ. биол., 12, № 2 (1951). ⁴ И. И. Соколовская, Вестн. животноводства, № 4 (1947). ⁵ И. И. Соколовская, Новое в биологии размножения сельскохозяйственных животных, сборн., 1951, стр. 357. ⁶ E. Waldstein u. R. Ekle, Wiener klinische Wochenschrift, No. 42 (1913). ⁷ Halban u. Frankl, Gynekolog. Rundschau, No. 13 (1910).