

С. М. ЦИПЕР

## О ЗАВИСИМОСТИ МЕЖДУ РАЗВИТИЕМ СЕМЕННИКА И ГИАЛУРОНИДАЗНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

(Представлено академиком А. И. Опариным 15 V 1953)

Учение О. Б. Лепешинской о развитии клетки наносит сокрушительный удар по так называемой теории зачаткового пути.

Следует отметить, что фактический материал, на котором базировалась теория «зачаткового пути», по сути с мичуринских позиций еще не был пересмотрен. Особенно это касается мужских половых клеток млекопитающих. Поэтому всестороннее изучение разнообразных процессов, связанных с развитием семенника, представляет несомненный интерес. На кафедре биологии Киевского медицинского института было поставлено исследование развития мужских половых желез белой мыши, начиная от первичной закладки недифференцированной гонады у зародыша и кончая формированием живчиков.

В настоящей статье мы не излагаем данных о происходящих при этом морфологических преобразованиях. Важно лишь указать на то, что в основе упомянутых преобразований лежит возникновение новых дочерних клеток и отмирание старых. Естественно, что дочерние клетки будут отличаться от материнских новым обменом веществ. Эти отличия могут быть обнаружены при помощи биохимического исследования.

В качестве биохимического показателя обмена веществ семенника мы избрали его гиалуронидазную активность. И. И. Соколовской<sup>(1, 2)</sup> было показано, что присутствие гиалуронидазы является характерной особенностью живчиков млекопитающих. Вместе с тем, в литературе<sup>(3)</sup> имеются указания, что незрелые семенники не содержат гиалуронидазы. Следовательно, появление этого фермента на более поздних стадиях развития органа должно быть обусловлено качественным изменением обмена веществ, связанным с появлением новых клеток.

Для проверки этого предположения были исследованы экстракты из семенников мышей разного возраста, от первых дней жизни до наступления половой зрелости включительно. Все эти мыши были выращены в нашем виварии в стандартных условиях, обеспечивающих их нормальную жизнедеятельность. Определение гиалуронидазной активности экстрактов производилось при помощи обычных биохимических методик, основанных либо на ферментативном снижении вязкости гиалуроната, либо на утрате им способности к образованию сгустка с уксусной кислотой. Первая методика как более чувствительная применялась для обнаружения малых количеств гиалуронидазы, а также при изучении динамики нарастания гиалуронидазной активности в ближайшие дни после появления этого фермента; вторая — в опытах с животными старшего возраста, где активность была настолько высока, что ее можно было представить в виде единиц активности<sup>(4)</sup>. Ввиду наличия малых количеств исследуемого материала экстракт приготавливался из расчета 1 мл физиологического

раствора на 20 мг ткани. Как правило, в каждом опыте для экстрагирования употреблялся только один семенник, второй же фиксировался и использовался для изготовления гистологических препаратов. Этот прием давал возможность в дальнейшем сопоставлять биохимические показатели обмена веществ с морфологическими. В тех случаях, когда семенник весил менее 20 мг (мыши в возрасте до 18 дней), приходилось забивать сразу двух и более самцов одного помета. Всего было поставлено 84 опыта.

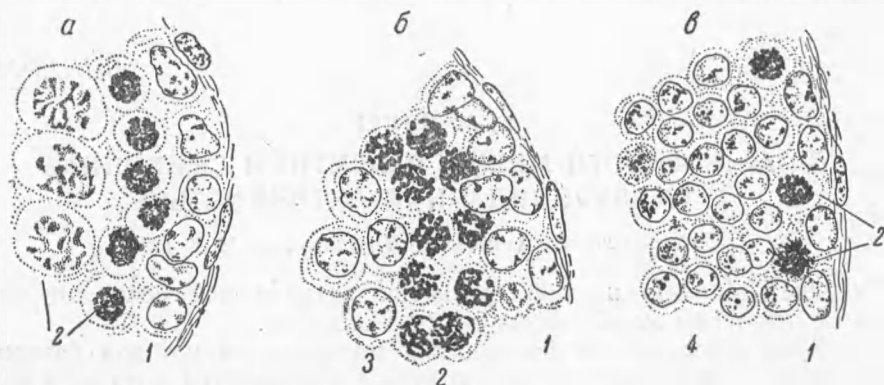


Рис. 1. Участки поперечных срезов через семенные каналцы мышей. Из каждого семенника выбран для зарисовки самый зрелый каналец. *а* — возраст 19 дней, гиалуронидаза не обнаружена; *б* — возраст 20 дней, следы гиалуронидазы (снижение вязкости на 10%); *в* — возраст 24 дня, гиалуронидазная активность 250 ед. М-К (снижение вязкости 46%). 1 — сперматогонии, сертолиевы и недифференцированные клетки; 2 — сперматоциты I порядка на разных ступенях развития; 3 — сперматоциты II порядка; 4 — сперматиды

Исследования показали, что первое появление гиалуронидазы в семеннике мыши, обнаруживаемое на основании снижения вязкости гиалуроната на 5—11%, отмечается обычно в возрасте 20—21 день, причем оно всегда совпадает с образованием сперматоцитов II порядка. Последнее в некоторых случаях может на 1 день предшествовать появлению гиалуронидазы, но обратного соотношения, т. е. наличия гиалуронидазы при отсутствии сперматоцитов II порядка, никогда не бывает. Далее мы приводим примеры резких различий в величине гиалуронидазной активности у мышей с приблизительно одинаковым гистологическим строением семенника, что может быть связано только с различным обменом веществ морфологически сходных клеток у разных животных. Очевидно, не обнаруженное нами в отдельных опытах снижение вязкости гиалуроната под действием экстракта из семенников, в которых уже имелось некоторое (правда, всегда незначительное) число сперматоцитов II порядка, обусловлено той же причиной. А именно, выделяемые этими клетками количества фермента настолько невелики, что не могут быть уловлены нашей методикой исследования.

Во всяком случае, до появления сперматоцитов II порядка гиалуронидаза в семеннике отсутствует (рис. 1 *а* и *б*). Таким образом, наше исследование показывает, что появление гиалуронидазы, намного предшествующее формированию живчиков, является переломным в обмене веществ в процессе развития половой железы. Затем гиалуронидазная активность постепенно нарастает (рис. 2), что может быть связано как с возникновением новых сперматоцитов II порядка, так и с дальнейшим развитием уже образовавшихся, переходом их ко второму делению созревания. При этом сначала наблюдается только свойство фермента влиять на вязкость гиалуроната, свойство же лишать гиалуронат способности к образованию сгустка присоединяется к первому несколько позднее. Так, экстракт из семенника мыши 24—25-дневного возраста, снижающий

вязкость гиалуроната на 35—40%, еще не оказывает сколько-нибудь заметного влияния на характер образуемого последним в кислой среде сгустка. Второе свойство проявляется, как правило, начиная с 24—25 дня, когда у мыши в семеннике происходит второе деление созревания и появляются многочисленные сперматиды (рис. 1 в).

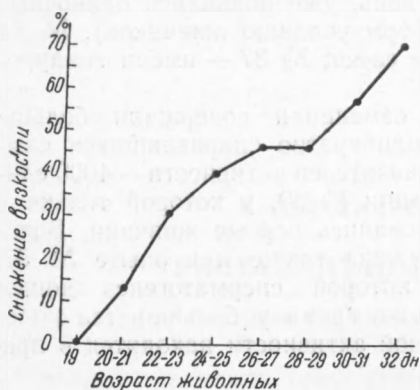


Рис. 2. Снижение вязкости гиалуроната под действием экстрактов из семенников

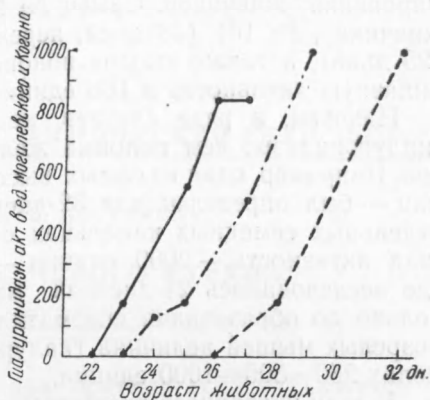


Рис. 3. Зависимость гиалуронидазной активности семенника от возраста животных. Каждый график составлен на основании опытов с одним помещением животных

Вопрос о том, зависит ли расхождение во времени между проявлениями обоих свойств гиалуронидазы только от разного количественного ее содержания или же оно обусловлено качественным изменением фермента вследствие перехода семенника на новый этап развития, требует еще дальнейшего исследования. В пользу второго предположения говорит отсутствие полного параллелизма между степенью снижения вязкости и величиной активности, выраженной в единицах М. Могилевского и Л. Кована (4) (см. табл. 1).

Данные табл. 1 свидетельствуют, что экстракты, вызывающие сходное снижение вязкости гиалуроната, могут обладать вместе с тем резко различной величиной гиалуронидазной активности (выраженной в единицах М-К), и, наоборот, одинаковая величина активности сочетается с различной степенью падения вязкости.

Следует указать также, что по нашим данным величины гиалуронидазной активности у мышей одного возраста и с одинаковым гистологическим строением половых желез, но взятых из различных пометов, сильно разнятся. Размах колебаний достигает иногда нескольких сотен единиц. Например, у 23-дневных мышей №№ 61 и 62, забитых с интервалом в 1 час, гиалуронидазная активность была, соответственно, 500 и 250 единиц. 25-дневный самец № 54 имел активность в 550 единиц, в то время как его ровесник № 74 — всего 166. У мыши № 40 в возрасте 35 дней гиалуронидазная активность составляла 333 единицы, а у № 81—909. Из двух 4-месячных самцов, исследованных в тот же самый день, первый обладал активностью в 1000 единиц, второй — в 500, и т. д.

С другой стороны, нередко семенники, находящиеся на разных ступенях развития, имеют одну и ту же гиалуронидазную активность. Так, активность в 250 единиц наблюдалась у 23-дневной мыши № 62, у кото-

Таблица 1

№№ животных	Возраст мыши в днях	Снижение вязкости в %	Активность в едн. М-К
71	24	44	0
72	24	46	250
74	25	50	166
77	29	46	909
92	31	59	166

рой лишь появились первые сперматиды, у 28-дневной № 23 с только формирующимися живчиками и у № 38—36-дневного самца, у которого живчики уже вышли в придаток. Активность в 500 единиц была обнаружена как у ряда имевших потомство животных (№№ 32, 24), так и у 25-дневного (№ 54) и 23-дневного (№ 61), т. е. задолго до начала формирования живчиков. Самец № 92 (31 день, уже появились одиночные живчики), № 101 (28 дней, переход к формированию живчиков), № 74 (25 дней), а также вполне половозрелый самец № 37 — имели гиалуронидазную активность в 166 единиц.

Наконец, в ряде случаев незрелые семенники содержали больше гиалуронидазы, чем половые железы неоднократно спаривавшихся самцов. Например, один из самых высоких показателей активности — 4000 единиц — был определен для 32-дневной мыши № 80, у которой только в отдельных семенных канальцах сформировались первые живчики. Большая активность — 2000 единиц — обнаружена также и в опыте № 57, где исследовалась 24-дневная мышь, у которой сперматогенез дошел только до образования сперматид. В то же время у большинства половозрелых мышей величина гиалуронидазной активности находится в пределах 250—500—1000 единиц.

В силу указанного расхождения сопоставление нарастания активности с процессами созревания семенника, а также, следовательно, и с возрастом животного возможно лишь в пределах мышей того же самого помета (рис. 3). На этом основании можно сделать вывод, что, по всей вероятности, появление гиалуронидазы в семеннике связано с одними и теми же периодами морфологической дифференцировки клеток железы, но степень активности фермента зависит от обмена веществ всего организма мыши в целом.

Кроме семенников, у 12 мышей исследовались на присутствие гиалуронидазы также и придатки. При этом было отмечено, что впервые гиалуронидаза в придатке обнаруживается лишь тогда, когда в его канальцы поступают сперматоциты II порядка и сперматиды. У половозрелых мышей содержание гиалуронидазы в придатке всегда выше, чем в соответствующем ему семеннике. Это свидетельствует о том, что из всех клеток семенного канальца живчики обладают наибольшей гиалуронидазной активностью — для данного животного (поскольку из сказанного в предыдущем абзаце вытекает, что сперматиды у одних мышей могут выделять больше гиалуронидазы, чем живчики у других).

Сперматоцитам II порядка, их образованию и последующему делению, т. е. тому этапу сперматогенеза, который получил название периода созревания, посвящена большая литература. Однако этот вопрос рассматривался односторонне, с чисто механистических позиций менделизма — морганизма. Все внимание уделялось описанию мельчайших деталей хромосом, их формы и расположения; сущность процессов сводилась только к механическому перемещению и редукции хроматина. Приведенные в настоящей работе данные показывают, что отмеченные в период созревания морфологические преобразования, так же как и появление гиалуронидазы, являются лишь одним из проявлений коренного изменения в обмене веществ развивающихся клеток, что, в свою очередь, обусловлено изменившимся обменом веществ организма.

Поступило  
20 V 1952

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> И. И. Соколовская, Вестн. животноводства, № 4 (1947). <sup>2</sup> И. И. Соколовская, Сборн. Новое в биологии размножения с.-х. животных, 1951, стр. 357.  
<sup>3</sup> М. Могилевский, Л. Коган, Вопр. мед. хим., 2 (1950). <sup>4</sup> М. Могилевский, Л. Коган, там же, 1 (1949).