

Морфофункциональная характеристика семенников быков казахской белоголовой породы крупного рогатого скота

Ф.Г. Каюмов, д.с.-х.н., профессор, А.Н. Сазонов, аспирант, ФГБНУ Всероссийский НИИМС; Н.Н. Шевлюк, д.б.н., профессор, Д.А. Боков, н.с., Е.В. Блинова, к.б.н., Л.В. Ковбык, к.б.н., ГБОУ ВПО ОрГМУ; Н.В. Обухова, к.б.н., ФГБОУ ВО Оренбургский ГАУ

Изучению структурно-функциональных характеристик органов мужской репродуктивной системы позвоночных посвящено большое количество исследований [1–10]. Однако по некоторым аспектам морфофункциональных особенностей семенников крупного рогатого скота сведения фрагментарны либо противоречивы. Так, недостаточно освещены вопросы тонкой гистологической структуры семенников быков казахской белоголовой породы.

Целью настоящего исследования явилось определение морфофункциональной характеристики эндокринных и герминативных структур семенников быков казахской белоголовой породы крупного рогатого скота.

Материал и методы исследования. Объектами изучения служили семенники половозрелых быков (в возрасте 18 мес.) казахской белоголовой породы крупного рогатого скота (12 особей). Известно, что половозрелыми быки крупного рогатого скота становятся в возрасте полутора лет.

Материал получали после убоя животных. Полученный материал фиксировали в 12-процентном водном растворе нейтрального формалина, спирт-

формоле, жидкости Буэна. Парафиновые срезы толщиной 5–7 мкм окрашивали гематоксилином Майера и эозином, перйодатом калия и реактивом Шиффа по Мак Манусу. С использованием иммуноцитохимических методов определяли выраженность экспрессии белков, являющихся маркёрами про- и антиапоптотической активности (P53 и bcl2). Для электронной микроскопии материал последовательно фиксировали в 2,5-процентном растворе глутарового альдегида и 1-процентном растворе четырёхокси осмия, обезвоживали в ацетоне возрастающей концентрации и заливали в ЭПОН-812. Ультратонкие срезы изготавливали на ультратоме LKB-5. Исследование ультратонких срезов и их фотографирование производили в электронном микроскопе ЭМВ 100 АК при увеличениях $\times 4500$ – 40000 .

На светооптическом уровне в семенниках определяли площадь, занимаемую извитыми семенными канальцами и интерстициальной тканью, измеряли диаметр извитых семенных канальцев, объёмы клеток Лейдига и их ядер, подсчитывали количество функционально активных клеток в популяции интерстициальных эндокриноцитов. К функционально активным относили клетки, имеющие значительные объёмы ядра и цитоплазмы (не менее 2/3 от средних показателей).

На электронограммах клеток Лейдига определяли объёмы митохондрий и гладкой эндоплаз-

матической сети. Относительный объём гладкой эндоплазматической сети и митохондрий определяли с использованием точечной сетки ($Pt = 480$), накладываемой на электронограммы при стандартном увеличении.

Полученные цифровые данные обрабатывали на компьютере в программе Statistica 6.0 («StatSoft, Inc.») с использованием критериев оценки достоверности результатов по Стьюденту, с учётом вариабельности первичных измеряемых объектов и индивидуальной изменчивости.

Результаты исследования. Результаты исследования показали, что площадь, занимаемая интерстициальной тканью в семенниках половозрелых быков казахской белоголовой породы, составляет $14,1 \pm 1,5\%$, на долю клеток Лейдига приходится $7,0 \pm 0,6\%$, а на стромальные соединительнотканые элементы и сосуды – $7,1 \pm 0,5\%$.

В интерстиции органа значительна доля фибриллярных структур соединительной ткани. Клеточный состав интерстициальной ткани семенников принципиально не отличался от такового других млекопитающих.

Диаметр извитых семенных канальцев в семенниках быков казахской белоголовой породы составлял $191,8 \pm 7,2$ мкм. Сперматогенный эпителий в канальцах был многослойный, в нём обнаруживались клетки всех стадий сперматогенеза – от сперматогоний до сперматозоидов.

Как показали электронномикроскопические исследования, одной из особенностей стенки гематотестикулярного барьера в семенниках исследованных быков является то, что базальная мембрана, на которой лежат клетки Сертоли (внутренний неклеточный слой стенки извитого семенного канальца), является многослойной и представлена 5–6 фибриллярными слоями. Популяция клеток Лейдига исследованных животных характеризуется разнообразием форм клеток от округлой и овальной до полигональной; в

большом количестве также присутствуют клетки отростчатые и веретеновидные. Округлые клетки имеют диаметр 10–13 мкм. Длина овальных и полигональных колеблется в пределах 10–14 мкм, а ширина составляет 8–10 мкм. Три первые клеточные формы характеризуются ядрами средних и крупных размеров, хорошо развитой цитоплазмой. В ядрах эухроматин распределён равномерно по всей площади, содержание пристеночного гетерохроматина варьирует. Описанная морфологическая характеристика свойственна зрелым, функционально активным клеткам.

Анализ распределения по группам клеток с различными размерами ядер показал, что в популяции клеток Лейдига семенников быков преобладают клетки со средними размерами ядер (табл. 2), их насчитывается более 50%. Значителен процент и крупных клеток, имеющих объёмы ядер свыше 100 мкм^3 .

В дифференцированных клетках умеренно развит гладкий ЭР, часто образующий крупные вакуолярные расширения. Митохондрии многочисленны, матрикс митохондрий достаточно плотный, и в нём не всегда различимы кристы тубулярного и смешанного типа строения. На поверхности отдельных клеток имеются различной формы выпячивания цитолеммы. Часто обнаруживаются контакты отростков клеток Лейдига с кровеносными и лимфатическими капиллярами. В участках контактов клеток Лейдига с капиллярами в поверхностном слое цитоплазмы эндокриноцитов содержится много экзоцитозных везикул. Липидные капли имеют большие размеры, но встречаются редко и не в каждой клетке. Содержание лизосом в цитоплазме эндокриноцитов невысокое.

Веретеновидные клетки характеризуются морфологическими признаками малодифференцированных клеток. Содержание гетерохроматина в их ядрах более высокое, чем в клетках округлых и полигональных форм, в цитоплазме умеренно

1. Сравнительная морфометрическая характеристика структур семенников быков казахской белоголовой породы ($X \pm Sx$)

Исследуемый признак	Количественные параметры
Количество исследованных животных, гол.	12
Масса гонад, г	$253,4 \pm 16,0$
Диаметр извитых семенных канальцев, мкм	$191,8 \pm 7,2$
Площадь интерстициальной ткани, %	$14,1 \pm 1,5$
Количество клеток Лейдига на условную единицу площади	$13,72 \pm 0,40$
Объём ядер клеток Лейдига, мкм^3	$75,67 \pm 5,30$
Содержание зрелых, функционально активных клеток Лейдига, %	$63,2 \pm 4,41$

Примечание: * – Различия значимы при $P < 0,01$

2. Процентное содержание эндокриноцитов с различными объёмами ядер быков казахской белоголовой породы

Процентное содержание эндокриноцитов с различными объёмами ядер				
до 30 мкм^3 $4,8 \pm 0,6$	$31-50 \text{ мкм}^3$ $12,0 \pm 0,7$	$51-70 \text{ мкм}^3$ $32,6 \pm 2,4$	$71-100 \text{ мкм}^3$ $38,2 \pm 5,5$	Свыше 100 мкм^3 $12,4 \pm 1,0$

Примечание: * – Различия значимы при $P < 0,01$

развиты гладкий и шероховатый ЭР, много свободных рибосом, площадь цитоплазмы значительно меньше.

В интерстициальной ткани выявляется небольшое количество клеток с признаками деструкции ядра и цитоплазмы.

Вышеописанные состояния интерстициальных эндокриноцитов отмечались на фоне активного сперматогенеза в извитых семенных канальцах.

Выраженность экспрессии проапоптотического белка P53 в семенниках была незначительной, в то же время следует отметить, что её проявление было более рельефным в сперматогенном эпителии по сравнению с популяцией интерстициальных эндокриноцитов. Экспрессия белка bcl2 была умеренной, более выраженной она являлась в клетках Лейдига по сравнению с клетками сперматогенного эпителия.

Наши данные о морфофункциональной характеристике извитых семенных канальцев и клеток Лейдига семенников быков казахской белоголовой породы согласуются с данными других исследователей [2, 9, 10], полученными при изучении семенников быков других пород. Это указывает на незначительную выраженность породной специфичности морфофункциональных признаков семенников у этих животных.

Содержание волокон и клеток соединительной ткани у быков превосходит таковое у крыс и мышей, но ниже, чем у хряков и собак [6]. При этом повышено по сравнению с некоторыми другими млекопитающими и содержание фибриллярных структур в стенке извитых канальцев, особенно во внутреннем неклеточном слое.

Анализ структуры популяции клеток Лейдига быков казахской белоголовой породы показал, что основу популяции клеток Лейдига семенников этих животных составляют округлые, овальные или полигональные клетки средних размеров с хорошо развитой цитоплазмой, со средними, иногда крупными размерами ядер. Это зрелые дифференцированные клетки, которые в результате детерминации и дифференцировки приобрели явно выраженную специализацию, способность к синтезу андрогенов. В этих клетках хорошо развит гладкий ЭР, многочисленны митохондрии, могут выявляться липидные капли в цитоплазме.

Животные, у которых не выражена сезонность в размножении, как правило, содержат в цитоплазме клеток Лейдига мало липидных включений. Напротив, у животных с сезонным характером репродукции практически всегда в цитоплазме подобных клеток выявляется много липидных капель различной электронной плотности, окружённых мембраной. Наши данные по этому вопросу подтверждают имеющиеся в литературе сведения [3, 6–9].

Выделенные нами различия в морфологических показателях клеток Лейдига в семенниках быков казахской белоголовой породы, очевидно, указывают на то, что выявляемые морфологические разновидности являются разными стадиями развития интерстициальных эндокриноцитов и степени их функциональной активности. Мелкие, веретеновидной формы клетки, близкие по некоторым особенностям строения к фибробластам, являются наиболее молодыми и менее дифференцированными клетками. Они, вероятно, и являются источником поддержания постоянства состава клеток в этой популяции. Известно, что в пубертатной популяции клеток Лейдига не выявлена митотическая активность, об этом свидетельствуют и наши результаты, и литературные данные. Поэтому стабильность в популяции обеспечивается динамическим равновесием между процессами дифференцировки эндокриноцитов из их малодифференцированных предшественников и процессами их гибели.

Вывод. Морфологические параметры эндокринных и герминативных структур семенников у исследованной породы крупного рогатого скота незначительно отличаются от таковых, выявленных для других пород, что указывает на то, что гистологическая характеристика семенников крупного рогатого скота мало зависит от породной принадлежности животных.

Литература

1. Каюмов Ф.Г., Шевлюк Н.Н., Сурундаева Л.Г., Джуламанов К.Н., Тюлебаев С.Д. Морфофункциональная характеристика извитых семенных канальцев семенников крупного рогатого скота // *Морфология*. 2016. Т. 149. № 3.
2. Попов А.С. Структурно-функциональные особенности строения семенников быков в онтогенезе. Улан-Удэ, 1993. 23 с.
3. Шевлюк Н.Н. Сравнительная морфофункциональная характеристика эндокриноцитов семенников позвоночных (онтогенез, сезонные изменения, действие экстремальных факторов): автореф. дисс. ... докт. биол. наук. М., 1997. 40 с.
4. Шевлюк Н.Н. Основные принципы и закономерности структурно-функциональной организации эндокринных и герминативных структур семенников позвоночных // *Морфология*. 2003. Т. 121. № 2–3. С. 179–180.
5. Шевлюк Н.Н. Сравнительная морфофункциональная характеристика органов репродуктивной системы мелких млекопитающих в условиях антропогенной трансформации степных экосистем Южного Урала / Н.Н. Шевлюк, Е.В. Блинова, Д.А. Боков, Л.Л. Дёмина, Е.Е. Елина, О.А. Мешкова, М.Ф. Рыскулов // *Морфология*. 2013. Т. 144. № 5. С. 40–45.
6. Шевлюк Н.Н., Стадников А.А., Обухова Н.В. Характеристика сезонной морфофункциональной динамики семенников и придаточных половых желёз козлов оренбургской пуховой породы // *Овцы, козы, шерстяное дело*. 2003. № 3. С. 21–24.
7. Шевлюк Н.Н. Морфофункциональная характеристика клеток Лейдига семенников свиней крупной белой породы / Н.Н. Шевлюк, Д.А. Боков, Е.В. Блинова, Л.В. Ковык, Н.В. Обухова // *Известия Оренбургского государственного аграрного университета*. 2015. № 5 (55). С. 211–213.
8. Lincoln G.A., Lincoln C.E., McNeilly A.S. Seasonal cycles in the blood plasma concentration of FSH, inhibin and testosterone and testicular size in rams of wild, feral and domesticated breeds of sheep // *J. Reprod. and Fert.* 1990. Vol. 88. № 2. P. 623–633.
9. Wrobel K.H. The postnatal development of the bovine Leydig cell population // *Zuchthygiene*. 1990. Vol. 25. № 2. P. 51–60.
10. Wrobel K.H., Dostal S., Schimmel M. Postnatal development of the tubular lamina propria and intertubular tissue in the bovine testis // *Cell and Tissue Res.* 1988. Vol. 252. № 3. P. 639–653.