

УДК 591.526:591.463.2.068.1.:593.32

МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ СПЕРМАТОГЕНЕЗА У ЛЕСНЫХ ПОЛЕВОК ПРИ РАЗНЫХ ФАЗАХ ЧИСЛЕННОСТИ ПОПУЛЯЦИИ

В. П. Мамина

Институт экологии растений и животных УрО РАН,

620144 Екатеринбург, ул. 8 Марта, 202

E-mail: mamina@ipae.uran.ru

Поступила в редакцию 05.10.2015 г.

Проведен морфофункциональный анализ эндокринного и герминативного отделов семенника у рыжей полевки *Myodes glareolus* из природной популяции при разной численности популяции. Показано, что снижение герминативной активности семенника на пике численности популяции обусловлено уменьшением функциональной активности эндокринного отдела семенника (клеток Лейдига и Сертоли), в результате чего происходит снижение содержания тестостерона, адреносвязывающего белка и ингибина, участвующих в гормональной регуляции процесса сперматогенеза. Отмечено, что при низкой численности популяции у животных сохраняется тенденция к угнетению сперматогенеза.

DOI: 10.7868/S0002332916030085

Известно, что с увеличением плотности в популяции возникает физиологический стресс, приводящий к снижению репродуктивной способности самцов, торможению полового созревания зверьков, неэффективному спариванию и увеличению смертности молодых зверьков (Christian, 1974; Cergueira *et al.*, 2006). Торможение полового созревания у самцов может быть вызвано задержкой и нарушением сперматогенеза. Семенник выполняет две основные функции: герминативную, связанную с развитием половых клеток, и эндокринную, связанную с выработкой стероидных гормонов. Для развития сперматогенеза необходима активная секреторная деятельность эндокринного отдела семенника, которая представлена интерстициальными эндокриноцитами (клетки Лейдига), продуцирующими тестостерон, и сустентоцитами (клетки Сертоли), синтезирующими андрогенсвязывающий белок (АСБ), ингибин и другие белки. Для нормального протекания сперматогенеза необходима высокая внутрисеменниковая концентрация тестостерона, которая создается благодаря АСБ (Габер и др., 1983; Russell, 1989; Parvinen, 1993). Главная функция клеток Лейдига – выработка андрогенов для паракринной регуляции сперматогенеза в пределах семенника, а также для андрогенных и анаболических эффектов вне семенника (Saez, 1994; Huleihel, Lunenfeld, 2004). Клетки Сертоли также оказывают паракринное действие на сперматогенез (Sharpe *et al.*, 2003; Mruk, Cheng, 2004), синтезируя целый ряд пептидов, влияющих на клетки Лейдига. Так, ингибин усиливает экспрессию рецепторов лютеинизирующего гормона (ЛГ) на

клетках Лейдига и тем самым активирует стероидогенез. Гормональный контроль сперматогенеза у млекопитающих осуществляется в рамках саморегулирующейся системы с отрицательной обратной связью гипоталамус–гипофиз–гонады (Steinberger, 1971; Holdcraft, Braun, 2004).

Показано, что нормальное индивидуальное содержание тестостерона в крови у мышевидных грызунов колеблется от 2.5 до 7.6 нг/мл, поэтому в пределах физиологических колебаний уровня тестостерона корреляция между частотой фертильных покрытий и содержанием тестостерона в крови четко не фиксируется (Осадчук, Науменко, 1983). Высокая вариабельность отмечается и в содержании ЛГ, контролирующего выработку тестостерона клетками Лейдига. Тестостерон, выполняющий герминативную функцию, обеспечивает конкуренцию между самцами, способствует их агрессивному поведению (Salvador *et al.*, 1997; McGlothlin *et al.*, 2007, 2008), усиливает проявление территориальности (Moore, Marler, 1987) и привлекательность самца для самки (Enstrom *et al.*, 1997). Поэтому тестостерон у мелких млекопитающих из природной популяции используется как показатель полового поведения при различных воздействующих факторах, особенно при стрессе (Hardy *et al.*, 2005; Герлинская, 2008; Новиков, Мошкин, 2009). На основе зоосоциального поведения проявляются авторегуляторные механизмы, которые поддерживают пространственную и демографическую структуру популяции, соответствующую условиям обитания. Действие внутривидовых механизмов опосредуется главным образом через эндокринную функцию

Морфометрические показатели семенников на разных фазах численности популяции ($M \pm m; p < 0.05$)

Фаза	Диаметр семенных канальцев, мкм	Площадь ядер, мкм ²	
		клеток Лейдига	клеток Сертоли
“Низкая”	169.8 ± 20.1* n = 28	31.8 ± 3.8** n = 19	49.7 ± 4.7** n = 28
“Рост”	176.4 ± 25.6 n = 34	35 ± 4 n = 35	57.8 ± 5.9 n = 25
“Пик”	151 ± 23.4*** n = 24	30.1 ± 2.1*** n = 38	51.4 ± 6.7*** n = 24

Примечание. n – число животных.

* Значимые различия между фазами “низкая” и “пик”.

** Значимые различия между фазами “низкая” и “рост”.

*** Значимые различия между фазами “пик” и “рост”.

гонад (Christian, 1971; Шилов, 1977; Науменко, 1979). Следует отметить, что практически отсутствуют данные, касающиеся взаимодействия герминативного и эндокринного отделов семенника при разных уровнях численности популяции. По-видимому, это обусловлено тем, что до сих пор действие на сперматогенез паракринных факторов, вырабатываемых клетками эндокринного отдела семенника, остается недостаточно изученным и зачастую дискуссионным.

Цель исследования – провести оценку герминативной функции семенника и морфофункционального состояния sustentоцитов, интерстициальных эндокриноцитов у рыжей полевки из природной популяции для выявления механизмов регуляции сперматогенеза при разной плотности популяции.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Были использованы половозрелые рыжие полевки *Clethrionomys glareolus* Schreber, 1780, отловленные (июнь–август) на Среднем Урале (57°21' с.ш., 59°48' в.д.) с помощью живоловок (Карасева и др., 2008) в годы пика (1992, 2001, 2004) и роста (1991, 2003, 2006) численности популяции. Фазы популяционного цикла определяли с учетом демографической структуры популяции и относительной численности (Жигальский, Кшняев, 2000). В год роста численности относительное обилие рыжей полевки составило 3 особи на 100 ловушко-суток, в год пика – 12.5. Семенники животных фиксировали в 10%-ном формалине, парафиновые срезы семенника толщиной 5–7 мк окрашивали гематоксилин-эозином. Гистологические препараты подвергались морфологическому и морфометрическому анализу. С помощью программного продукта SIAMS Photolab определяли диаметр семенных канальцев и размеры клеток эндокринного отдела семенника. Статистическая обработка данных выполнялась с

помощью однофакторного дисперсионного анализа (программный пакет Statistica 6). Для статистических тестов был принят 5%-ный уровень значимости.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенный морфометрический анализ семенных канальцев показал, что герминативная функция животных зависит от уровня численности популяции (таблица). При росте численности популяции практически у всех животных диаметр семенных канальцев соответствует активному сперматогенезу, при пике численности у большинства животных отмечается уменьшение диаметра семенных канальцев, что свидетельствует о снижении герминативной активности семенника (рис. 1а). Морфометрический анализ ядер клеток Лейдига и Сертоли показал их функциональную зависимость от плотности популяции (таблица). Площадь ядер клеток Лейдига колеблется от 20 до 41 мкм² (рис. 1б). Как правило, размеры периваскулярных клеток Лейдига меньше размеров перитубулярных, причем первые обладают менее выраженным стероидогенезом (рис. 2). При росте численности размер ядер колеблется от 27 до 41, при пике – от 20 до 35 (причем у 8% животных размер соответствует 41 мкм²), а при низкой численности – от 20 до 37 мкм² (у 10% животных составляет 41 мкм²). При пике численности популяции наблюдается уменьшение размеров ядер клеток Сертоли (таблица), свидетельствующее о снижении их функциональной активности. Показано, что у сезонно размножающихся грызунов в период регрессии семенников происходит уменьшение объема цитоплазмы и размера ядер у клеток Лейдига и Сертоли, при активации сперматогенеза – повышение функциональной активности клеток эндокринного отдела семенника (Райцина, 1985; Шевлюк и др., 1999; Шевлюк, Елина, 2008). Наблюдаемое нами снижение гер-

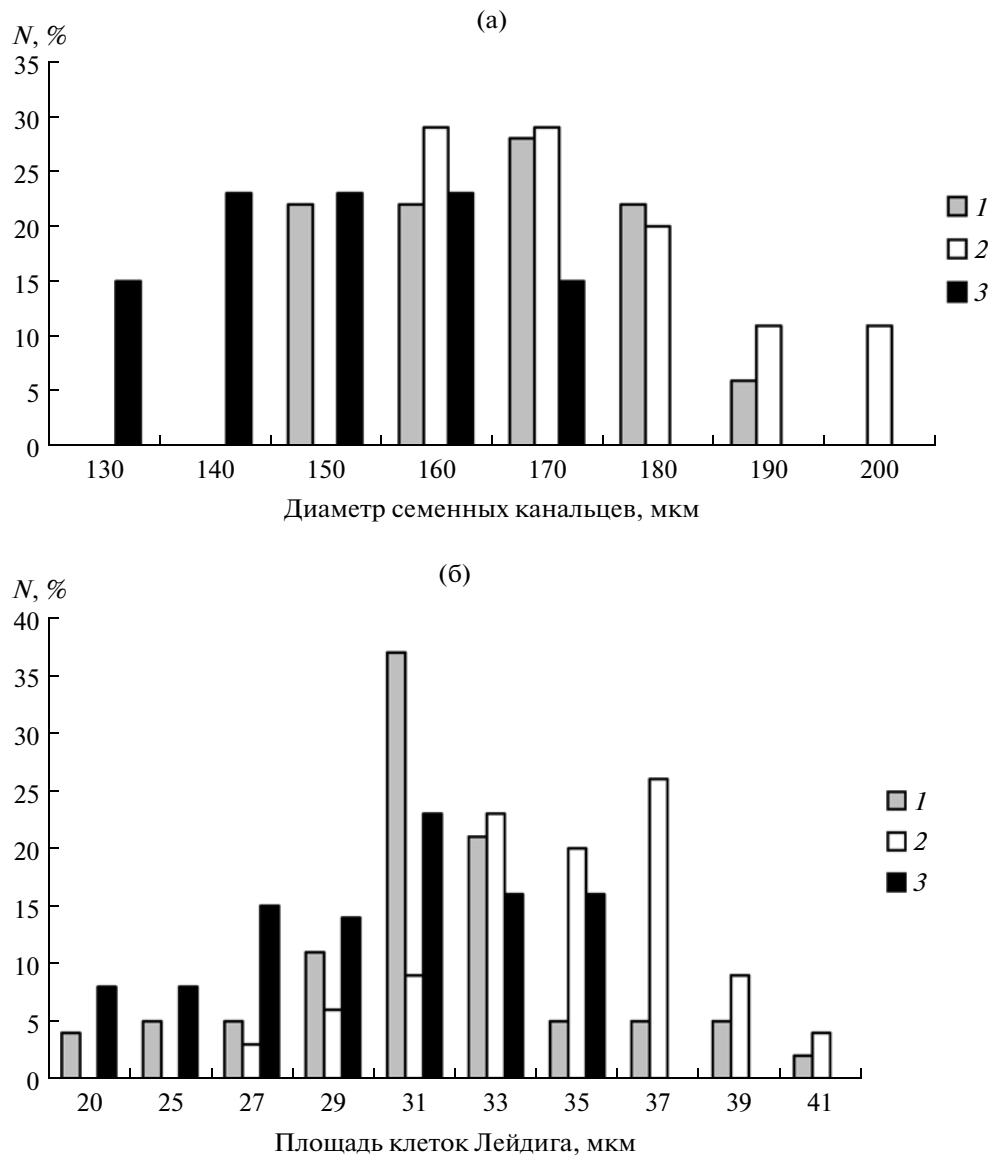


Рис. 1. Частота встречаемости животных (N) по диаметру извитых семенных канальцев (а) и по размеру ядер клеток Лейдига (б) в фазах “низкая” (1), “рост” (2) и “пик” (3) численности популяции.

минативной функции семенника на пике численности популяции связано с нарушением гормональной регуляции сперматогенеза (рис. 3).

Существуют две петли регуляции секреции тестостерона (Connell, Connell, 1977). В рамках большой петли ЛГ стимулирует выработку тестостерона клетками Лейдига, при отрицательной обратной связи тестостерон семенника вызывает торможение секреции ЛГ. Короткая петля (внутрисеменниковая) регуляции секреции тестостерона – угнетение продукции андрогенов клетками Лейдига эстрадиолом β -17, вырабатываемыми клетками Сертоли под влиянием фолликулостимулирующего гормона (ФСГ). Кроме того, тестостерон стимулирует секрецию АСБ, продуцируе-

мого клетками Сертоли (Steele, Leung, 1992). Угнетение андрогенной функции клеток Лейдига обусловлено снижением содержания ЛГ. Ранее было отмечено, что при пике численности возрастает функциональная активность адrenaльной железы, увеличивается синтез кортикостероидов (Роговин, Мошкин, 2007; Ермакова, 2008; Байтирова и др., 2010), которые ингибируют выработку гонадотропных гормонов. Была определена роль надпочечниковой системы в формировании структуры взаимоотношений между животными у ряда видов млекопитающих (Sapolsky *et al.*, 2000; Creel *et al.*, 2001; Goymann *et al.*, 2001; Wielebnowski *et al.*, 2002).

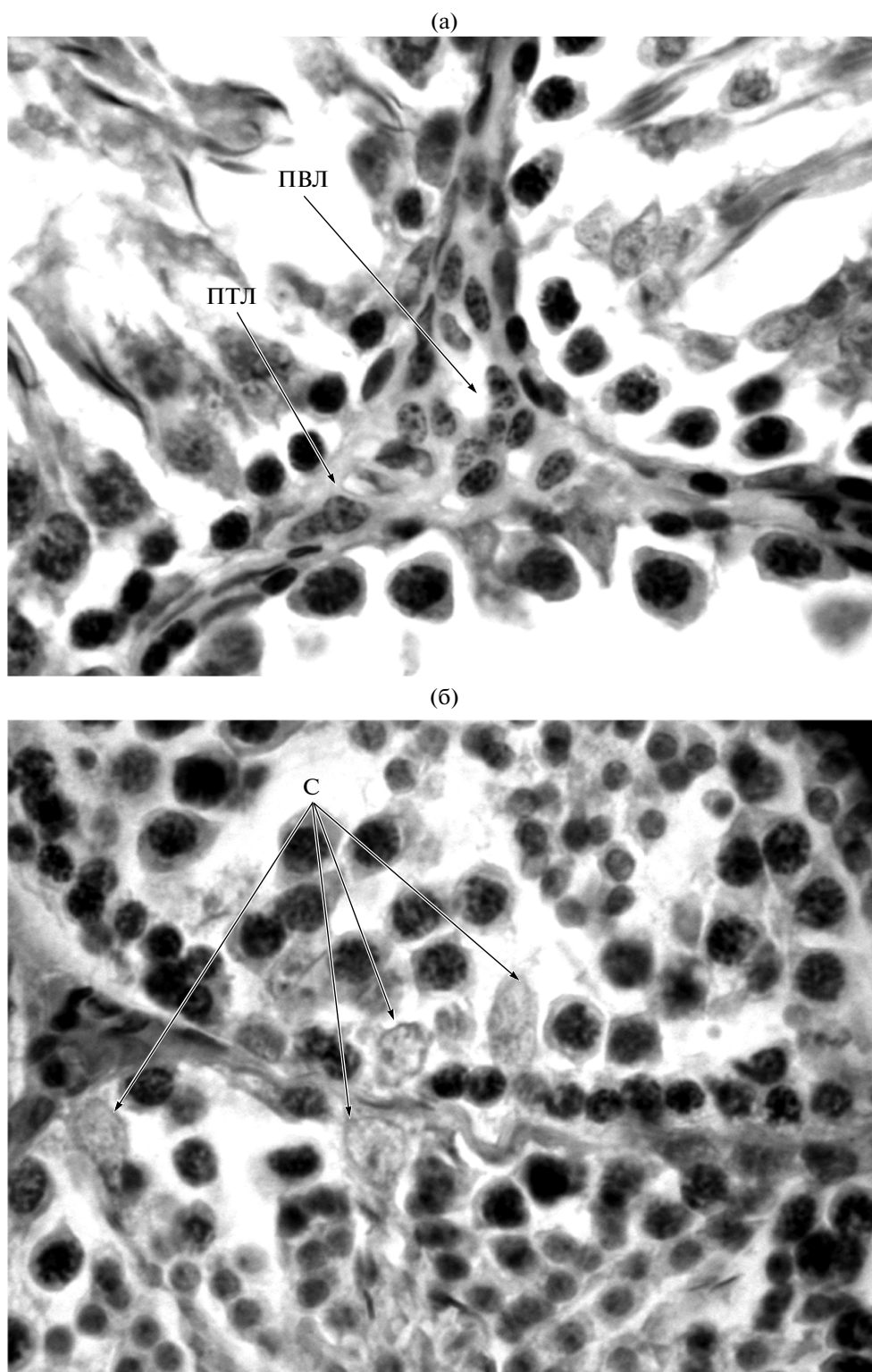


Рис. 2. Гистологические срезы семенника рыжей полевки. а – периваскулярные (ПВЛ) и перитубулярные (ПТЛ) клетки Лейдига; б – клетки Сертоли (С).

Было установлено, что уменьшение функциональной активности клеток Сертоли приводит к снижению синтеза АСБ и ингибина. Недостаток АСБ вызывает уменьшение концентрации тестостерона в извитых семенных канальцах. Снижение ингибина усиливает выработку и высвобождение ФСГ (рис. 3). Снижение активности эндокринного отдела семенника вызывает увеличение

Снижение ингибина усиливает выработку и высвобождение ФСГ (рис. 3). Снижение активности эндокринного отдела семенника вызывает увеличение

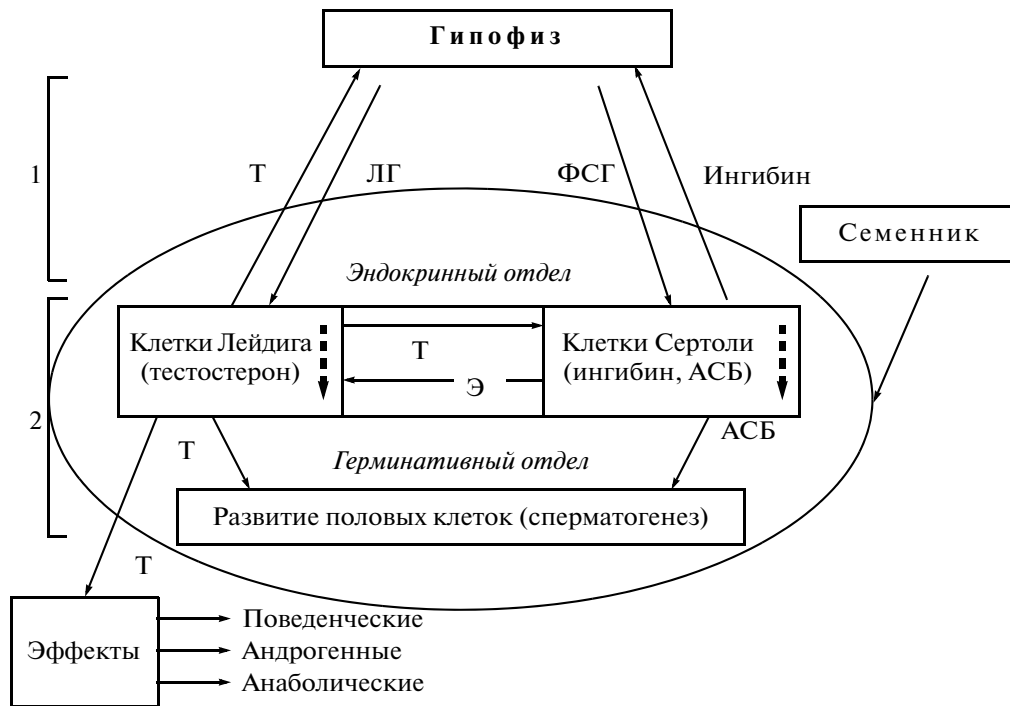


Рис. 3. Схема, отражающая гормональную регуляцию сперматогенеза. 1 – большая петля, 2 – короткая, внутрисеменная петля гормональной регуляции сперматогенеза. Т – тестостерон, ЛГ – лютеинизирующий гормон, ФСГ – фолликулостимулирующий гормон, АСБ – андрогенсвязывающий белок, Э – эстрадиол. Точечные стрелки – функциональная активность клеток Лейдига и Сертоли при пике и низкой численности популяции.

дегенеративных процессов в сперматогенном эпителии (рис. 4). Известно, что дегенерация сперматогенных клеток сопровождается повышением концентрации ФСГ, вызванным подавлением секреции ингибина (Rich, de Kretser, 1977).

Таким образом, снижение функциональной активности клеток Сертоли приводит к увеличению концентрации ФСГ. При низкой численности популяции также происходит достоверно значимое уменьшение функциональной активности клеток эндокринного отдела семенника, однако снижение его герминативной функции не столь выражено, как при пике численности (таблица). По-видимому, это обусловлено эффектом пренатального стресса, когда беременные самки при пике численности испытывают физиологический стресс от пере-уплотнения, который оказывает влияние на эндокринный статус потомков (Weinstock, 1992; Von Holst, 1998; Kaiser *et al.*, 2000; Kofman, 2002). Следует отметить, что в фазе “пик” численности популяции преобладают неполовозрелые животные (до 70%), остальную долю составляют перезимовавшие животные, которые обладают высоким уровнем метаболизма и быстро стареют (Оленев, Григоркина, 1998). Известно, что у быстро стареющих животных происходит гормональный дисбаланс, который приводит к угнетению процесса сперматогенеза (Захидов, 2007). В наших исследованиях на пике численно-

сти у большинства животных (до 70%) наблюдается угнетение герминативной активности семенников, которое обусловлено снижением функциональной активности клеток эндокринного отдела. Поэтому при пике численности зверьки, находящиеся в условиях физиологического стресса и на фоне ускоренного старения, заканчивают размножение раньше (в июле), тогда как при более низкой численности оно может продолжаться до осени (Жигальский, Бернштейн, 1989).

Таким образом, установлено, что герминативная и эндокринная функции семенников зависят от фазы численности популяции. При росте численности практически у всех животных (до 95%) отмечается активный сперматогенез. В фазе “пик” численности у большинства животных угнетение сперматогенеза вызвано снижением функциональной активности клеток Лейдига и Сертоли, т.е. уменьшением содержания тестостерона, АСБ и ингибина. Наблюдаемая нами дегенерация сперматогенных клеток связана с уменьшением секреции ингибина, которое приводит к возрастанию синтеза ФСГ. Высокий уровень ФСГ служит маркером дегенеративных изменений в половых клетках. При низкой численности популяции у зверьков сохраняется тенденция к угнетению герминативной функции семенников, которая обусловлена эндокринной ситуацией животных, находящихся в фазе “пик” численности.

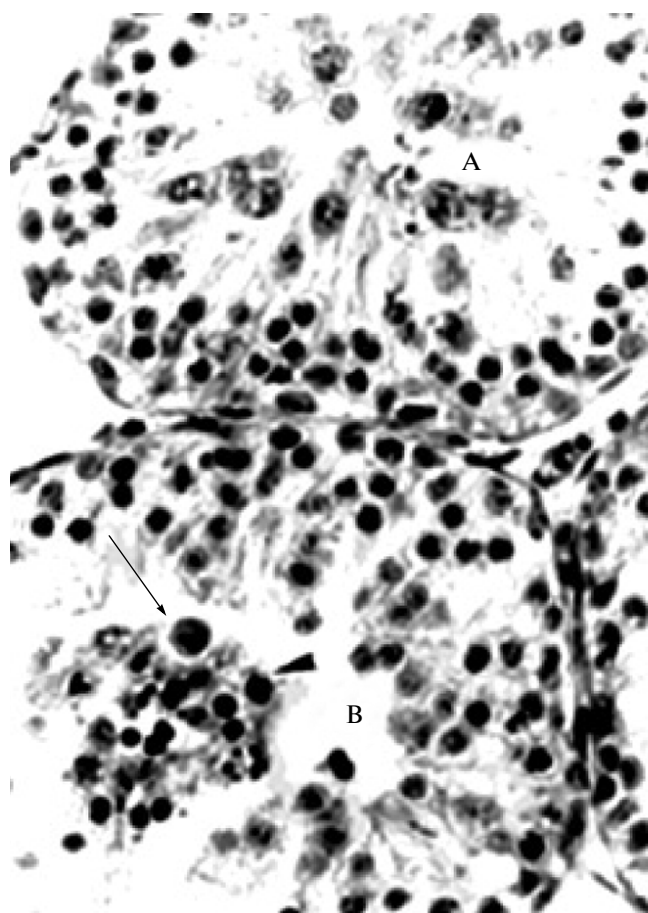


Рис. 4. Гистологический срез семенника рыжей полевки. А — семенной каналец без патологических изменений; В — семенной каналец с дегенерацией сперматид (обозначено стрелкой).

Присутствие андрогенов в крови регулируется активностью системы гипоталамус—гипофиз—гонады. Андрогены, которые накапливаются собственно в семенниках, осуществляют локальные воздействия на клетки Сертоли. Благодаря связыванию тестостерона с АСБ, который вырабатывается клетками Сертоли, в семенниках постоянно поддерживается высокий уровень тестостерона. Внутригонадный уровень андрогенов — важный фактор паракринной регуляции сперматогенеза.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Байтимилова Е.А., Мамина В.П., Жигальский О.А. Размножение европейской рыжей полевки (*Myodes glareolus*: Rodentia) в условиях естественных геохимических аномалий // Журн. общ. биологии. 2010. Т. 130. № 4. С. 426–432.
- Габер Е.С., Данилова Л.В., Князева Е.Ф., Костомарова А.А., Наук В.А., Петросьян Ж.Л., Райцина С.С., Ротм Н.Н. Сперматогенез и его регуляция. М.: Наука, 1983. 232 с.
- Герлинская Л.А. Механизмы поддержания гетерогенного воспроизводства в популяциях млекопитающих: Автореф. дис. докт. биол. наук. Новосибирск: ГУ НИИ физиологии СО РАН, 2008. 34 с.
- Ермакова О.В. Структурные перестройки периферических эндокринных желез мышевидных грызунов в условиях хронического облучения в малых дозах: Автореф. дис. докт. биол. наук. М.: МГУ, 2008. 36 с.
- Жигальский О.А., Бернштейн А.Д. Анализ факторов, определяющих численность и структуру населения рыжей полевки // Докл. АН СССР. 1989. Т. 305. № 6. С. 1509–1511.
- Жигальский О.А., Кишняев И.А. Популяционные циклы европейской рыжей полевки в оптимуме ареала // Экология. 2000. № 5. С. 383–390.
- Захидов С.Т., Гопко А.В., Маршак Т.Л., Кулибин А.Ю., Зеленина И.А. Изучение сперматогенеза у мышей с ускоренным старением // Изв. РАН. Сер. биол. 2007. № 6. С. 661–668.
- Карасева Е.В., Телицына А.Ю., Жигальский О.А. Методы изучения грызунов в полевых условиях. М.: Изд-во ЛКИ, 2008. 416 с.
- Науменко Е.В. О регуляции численности популяций у млекопитающих // Руководство по физиологии. Экологическая физиология животных. Ч. 1 Л.: Наука, 1979. С. 318–341.
- Новиков Е.А., Мошкин М.П. Роль стресса в модификации онтогенетических программ // Успехи соврем. биологии. 2009. Т. 129. № 3. С. 227–238.
- Оленев Г.В., Григоркина Е.Б. Функциональная структурированность популяций мелких млекопитающих (радиобиологический аспект) // Экология. 1998. № 6. С. 447–451.
- Осадчук А.В., Науменко Е.В. Генетико-эндокринные механизмы дифференциального размножения в микропопуляциях у самцов лабораторных мышей // Докл. АН СССР. 1983. Т. 268. № 4. С. 983–987.
- Райцина С.С. Сперматогенез и структурные основы его регуляции. М.: Наука, 1985. 206 с.
- Роговин К.А., Мошкин М.П. Авторегуляция численности в популяциях млекопитающих и стресс (штрихи к давно написанной картине) // Журн. общ. биологии. 2007. Т. 68. № 4. С. 244–267.
- Шевлюк Н.Н., Елина Е.Е. Биология размножения обыкновенной слепушонки *Ellobius talpinus*. Оренбург: Изд-во ОГПУ, 2008. 127 с.
- Шевлюк Н.Н., Руди В.Н., Стадников А.А. Биология размножения наземных грызунов из семейства беличьих. Екатеринбург: Изд-во УрО РАН, 1999. 145 с.
- Шилов И.А. Эколого-физиологические основы популяционных отношений у животных. М.: Изд-во МГУ, 1977. 262 с.
- Cerqueira D., De Sousa B., Gabrion C., Giraudoux P., Quere J., Delattre P. Cyclic changes in the population structure and reproductive pattern of the water vole, *Arvicola terrestris* Linnaeus, 1758 // Mamm. Biol. 2006. V. 71. P. 193–202.
- Christian J.J. Population density and reproductive efficiency // Biol. Reprod. 1971. № 4. P. 248–294
- Christian J.J. Hormonal control of population growth // Hormonal correlates of Behavior. N.Y.: Plenum Publ. Corp., 1974. P. 205–274.
- Connell C.J., Connell G.M. The interstitial tissue of the testis // The Testis / Eds Johnson A.D., Gomes W.R.,

- Vandemark N.L. N.Y.: Acad. Press, 1977. V. 4. P. 333–361.
- Creel S. Social dominance and stress hormones // *Ecol. Evol.* 2001. V. 16. № 9. P. 491–497.
- Enstrom D.A., Ketterson E.D., Nolan V.J. Testosterone and mate choice in the dark eyed junco // *Anim. Behav.* 1997. V. 54. P. 1135–1146.
- Goymann W., East M.L., Wachter B., Höner O.P., Mostl E., Van't Hof T.J., Höfer H. Social, state-dependent and environmental modulation of faecal corticosteroid levels in free-ranging female spotted hyenas // *Proc. Biol. Sci.* 2001. V. 268 (1484). P. 2453–2459.
- Hardy M.P., Hui-Bao Gao., Qiang Dong., Renshan Ge., Qian Wang., Wei Ran Chai., Xing Feng., Chantal S. Stress hormone and male reproductive function. *Cell Tissue Res.* 2005. V. 322. P. 147–153.
- Holdcraft R.W., Braun R.E. Hormonal regulation of spermatogenesis // *Int. J. Androl.* 2004. V. 27. P. 335–342.
- Huleihel M., Lunenfeld E. Regulation of spermatogenesis by paracrine/autocrine testicular factors // *Asian J. Androl.* 2004. V. 6. P. 259–268.
- Kaiser S., Brendel H., Sachser N. 'Effects of ACTH applications during pregnancy on the female offspring' endocrine status and behavior in guinea pigs // *Physiol. Behav.* 2000. V. 70. № 1–2. P. 157–162.
- Kofman O. The role of prenatal stress in the etiology of developmental behavioural disorders // *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2002. V. 26 (4). P. 457–470.
- McGlothlin J.W., Jawor J.M., Ketterson E.D. Natural variation in a testosterone-mediated trade-off between mating effort and parental effort // *Am. Nat.* 2007. V. 170. P. 864–875.
- McGlothlin J.W., Jawor J.M., Greives T.J., Casto J.M., Phillips J.L., Ketterson E.D. Hormones and honest signals: males with larger ornaments elevate testosterone more when challenged // *J. Evol. Biol.* 2008. V. 21. P. 39–48.
- Moore M.C., Marler C.A. Effects of testosterone manipulations on nonbreeding season territorial aggression in free living male lizard, *Sceloporus jarrovi* // *Gen. Comp. Endocr.* 1987. V. 65. P. 225–232.
- Mruk D.D., Cheng C.Y. Sertoli-Sertoli and Sertoli-germ cell interactions and their significance in germ cell movement in the seminiferous epithelium during spermatogenesis // *Endocr. Rev.* 2004. V. 25 (5). P. 747–806.
- Parvinen M. Cyclic function of Sertoli cells // *The Sertoli cells* / Eds Russell L.D., Griswold M.D. Cache Clearwater: River Press, 1993. P. 331–347.
- Rich K.A., de Kretser D.M. Effect of differing degrees of destruction of the rat seminiferous epithelium on levels of FSH and androgen binding protein // *Endocrinology.* 1977. V. 101. P. 959–974.
- Russell L.D., Bartke A., Goh J.C. Postnatal development of the Sertoli cell barrier, tubular lumen, and cytoskeleton of Sertoli and myoid cells in the rat, and their relations to tubular fluid and flow // *Am. J. Anat.* 1989. V. 184. P. 179–189.
- Saez J.M. Leydig cells: endocrine, paracrine, and autocrine regulation // *Endocr. Rev.* 1994. V. 15. P. 574–626.
- Salvador A., Veiga J.P., Martin J., Lopes P. Testosterone supplementation in subordinate, small male lizards: consequences for aggressiveness, color development, and parasite load // *Behav. Ecol.* 1997. V. 8. P. 135–139.
- Sapolsky R.M., Romero L.M., Munck A. How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions // *Endocr. Rev.* 2000. P. 2155–2189.
- Sharpe R.M., McKinnell C., Kivlin C., Fisher J.S. Proliferation and functional maturation of Sertoli cells, and their relevance to disorders of testis function in adulthood // *Reproduction.* 2003. V. 125. P. 769–784.
- Steele G.L., Leung P. Intra-gonadal signalling mechanisms in the control of steroid hormone production. // *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 1992. V. 41. P. 515–522.
- Steinberger E. Hormonal control of mammalian spermatogenesis // *Physiol. Rev.* 1971. V. 51. P. 1–22.
- Von Holst D. The concept of stress and its relevance for animal behavior // *Stress and behavior* / Eds Moller A.P., Milinski M., Slater P.J.B. S. Diego, California: Acad. Press, 1998. 132 p.
- Weinstock M. Does Prenatal Stress Impair Coping and Regulation of Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis? // *Neurosci. Biobehav. Rev.* 1992. V. 21. P. 1–10.
- Wielebnowski N.C., Ziegler K., Wildt D.E., Lukas J., Brown J.L. Impact of social management on reproductive, adrenal and behavioural activity in the cheetah (*Acinonyx jubatus*) // *Anim. Cons.* 2002. V. 5. P. 291–301.

МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ СПЕРМАТОГЕНЕЗА У ЛЕСНЫХ ПОЛЕВОК ПРИ РАЗНЫХ ФАЗАХ ЧИСЛЕННОСТИ ПОПУЛЯЦИИ

В. П. Мамина

Институт экологии растений и животных УрО РАН,

620144 Екатеринбург, ул. 8 Марта, 202

E-mail: tamina@ipae.uran.ru

Поступила в редакцию 05.10.2015 г.

Проведен морфофункциональный анализ эндокринного и герминативного отделов семенника у рыжей полевки *Myodes glareolus* из природной популяции при разной численности популяции. Показано, что снижение герминативной активности семенника на пике численности популяции обусловлено уменьшением функциональной активности эндокринного отдела семенника (клеток Лейдига и Сертоли), в результате чего происходит снижение содержания тестостерона, адреносвязывающего белка и ингибина, участвующих в гормональной регуляции процесса сперматогенеза. Отмечено, что при низкой численности популяции у животных сохраняется тенденция к угнетению сперматогенеза.