



УДК 599.323.4: 591.141

Морфологические изменения мускусных препуциальных желёз самцов ондатры и содержание в них белковых компонентов в зависимости от уровня половой активности

Т. С. Балтухаев¹, И. И. Силкин¹, Л. Ф. Шолохов²

¹ Иркутская государственная сельскохозяйственная академия, Иркутск

² Центр инновационной медицины института педиатрии и репродукции человека ГУ НЦ

МЭ ВСНЦ СО РАМН, Иркутск

E-mail: ivsi@list.ru

Аннотация. С использованием дифференциальной оценки различных белковых компонентов выявлен ряд новых закономерностей морфологических изменений и распределения некоторых белковых веществ в клетках и тканях мускусной препуциальной железы самцов ондатры в период спада половой активности.

Ключевые слова: мускусные препуциальные железы, самцы ондатры, половая активность, белковые компоненты, glanduloциты, выводной проток.

Введение

У самцов ряда видов млекопитающих и некоторых пресмыкающихся кожные железы концентрируются в специфические органы – мускусные железы, выделяющие пахучее вещество. Гистологически большинство этих органов представляют собой комплекс апокриновых и сальных желёз в различных соотношениях [14]. Биологическое значение мускусных желёз неоднократно обсуждалось многими исследователями. Выделяется ряд их основных функций [1]: оборонительно-агрессивная функция, сущность которой заключается в устрашении врага запахом мускуса, в дезориентации преследователя, в иммобилизации врага (а возможно, и жертвы), в отпугивании насекомых-паразитов; ориентировочно-исследовательская функция подразумевает маркировку мускусом обследованных предметов, территорий, границ участков, кормных и опасных мест, а также детёнышей, самок, других членов семьи или группы и самого себя; регуляция численности популяции с помощью запахов заключается в подавлении размножения или стимуляции его путём синхронизации полового цикла и возбуждения полового рефлекса; физиологическая функция заключается в экскреторной и терморегуляционной роли пахучих желёз, использовании мускусов для увлажнения и смазки покровов, регуляции физиологических состояний путём возбуждения мускусами нервной системы и органов чувств, в самолечении; функция

полового отбора на основе пахучих желёз подразумевает подбор пар и получение преимуществ в размножении; функция передачи информации подразумевает передачу сведений о среде (о кормных и опасных местах, покрытых самками, о тревоге и т. д.) и о себе (возраст, пол, иерархическое положение и т. д.); функция регуляции использования территории и пищевых запасов подразумевает сигнализацию о занятости норы, участка и т. д.; функция дополнения обоняния и компенсации его недостаточности заключается в том, что пахучие отметки и железы позволяют животным ориентироваться с помощью обоняния относительно друг друга на значительных расстояниях; пахучие железы препятствуют гибридизации разных видов, а в ряде случаев обуславливают изоляцию популяций.

В настоящее время ондатра как объект исследований привлекает внимание многих учёных, задействованных в различных областях науки. Достаточно сказать, что только в нашей стране издано около двадцати видовых монографий, касающихся ондатры. Кроме того, видовые очерки ондатры имеются практически во всех фаунистических и зоологических региональных сводках. Вопросы биологии ондатры являлись в разное время предметом специального рассмотрения на научно-производственных совещаниях и конференциях различного уровня.

Несмотря на это, сведения, касающиеся морфофункциональных перестроек в зависимости от уровня половой активности, происхо-

дящих в мускусной препуциальной железе, в доступной нам литературе не обнаружены. Имеющиеся литературные данные единичны и выполнены без учёта функционального состояния организма ондатры [6]. В этой связи данная статья является дополнением накопленных знаний о ценном в хозяйственном отношении и интересном в эколого-морфологическом плане виде фауны России.

Материалы и методы

Материалы для исследований собраны в пойме р. Ангары (Иркутский район Иркутской области) и в районе дельты р. Селенги (Кабанский район Республики Бурятия) от условно здоровых половозрелых самцов ондатры (*Ondatra zibethica*). Исследовалась мускусная препуциальная железа от животных четырёх функционально обоснованных групп в период спада половой активности до наступления стадии полового покоя (сентябрь – декабрь). Группы подбирались с учётом уровня половой активности самцов ондатры от начала спада репродуктивной функции до наступления стадии полового покоя, с интервалом в данном периоде 1 месяц. Количество исследованных животных в каждой группе составляло 5 особей.

Отобранный материал фиксировали в 10 %ном растворе нейтрального формалина, жидкости Карнуа и заключали в парафин. Серийные парафиновые срезы толщиной 5–7 мкм изготавливали из средней части левой и правой мускусной препуциальной железы на санном микротоме «Reichert Wien 2281». Срезы окрашивали гематоксилин-эозином по Караччи и по методу ван Гизон [10; 11].

Гистологические препараты железы изучали при помощи микроскопов «Микмед-1» и «Motic BA 400 T», микроморфометрические измерения производили при помощи винтового окуляр-микрометра МОВ-16-1.

Функциональную активность клеточных ядер glanduloцитов выявляли специальным методом по Яцковскому [15]. Ядра, содержащие эухроматин и окрашивающиеся альциановым синим при pH 4,8 и водным раствором сафранина в равных соотношениях с резорцином в синий или сине-красный цвет, считали активными. Неактивные ядра, содержащие гетерохроматин, окрашивались в красный цвет.

Полученные числовые данные макро- и микрометрических показателей подвергали статистической обработке с использованием компьютерных программ Excel из пакета Mi-

crosoft Office 2003, Biostatica с учётом классических рекомендаций [4; 8].

Для оценки функционального состояния мускусной препуциальной железы проводили гистохимические исследования. Для обнаружения общего белка использовали метод тетразониевого азосочетания по Даниелли с использованием прочного синего Б по Берстону [6] в модификации И. И. Силкина и Б. Я. Власова [12]. Бромфеноловый синий применяли для обнаружения суммарного (при pH 2,2) и свободного катионного (при pH 8,2) белка [17].

Лизин и гистидин выявляли остазиновыми красителями [9] с использованием в качестве контроля дезаминирования [3], для обнаружения аргинина использовали качественную реакцию с 8-оксихинолином-гипохлорита [5].

РНК выявляли по методу Браше в модификации Курника с постановкой контроля рибонуклеазой (Ribonuclease A from Bovine Pancreas, Fluka, Германия) в концентрации 1 мг/мл на физиологическом растворе в течение часа при температуре 37 °С [16]. Для идентификации ДНК проводили стандартную реакцию Фельгена [5].

Интенсивность гистохимических реакций определялась визуально, возрастная динамика выявлялась методом сравнения окрашенных препаратов.

Результаты

Поскольку одной из физиологических функций мускусных желёз у млекопитающих является функция полового отбора, которая подразумевает подбор пар и получение преимуществ в размножении пары [1], то можно предположить, что сезонные морфофункциональные изменения, протекающие в репродуктивных органах самцов ондатры в период от начала снижения половой активности и до наступления стадии полового покоя, могут вызывать определённые морфофункциональные перестройки и в мускусных препуциальных железах. Снижение половой активности у самцов ондатры, обитающих в условиях экосистемы оз. Байкал, приходится на конец сентября, а наступление стадии полового покоя – последнюю декаду декабря [2; 13].

В период начала спада половой активности (конец сентября) мускусная препуциальная железа самцов ондатры является хорошо выраженным дольчатым образованием. Орган разделён на крупные трапециевидные доли, в которые включены многочисленные ацинусы, разделённые очень тонкими соединительнот-

каными перегородками. В них хорошо заметны поперечные срезы многочисленных кровеносных сосудов. Ацинусы резко различаются между собой по степени созревания сальных клеток: одни состоят из созревающих клеток, другие заполнены полностью зрелыми, в третьих клетки разрушены и ацинусы, разрушаясь (и часто при этом сливаясь с соседними), впадают в выводной проток. По всей паренхиме железы наблюдается множество полостей, напоминающих каверны. Это выводные протоки железы, большинство из которых заполнены сальным секретом. Выводные протоки выстланы многослойным плоским неороговевающим эпителием. Окраска по методу Яцковского показала, что большинство ядер в мускусной препуциальной железе содержат эухроматин.

Проведённые гистохимические реакции позволили выявить некоторую закономерность функции железы в зависимости от статуса половой активности.

При анализе содержания и распределения белковых компонентов отмечается равномерное распределение общего белка во всех структурах органа. Уровень содержания этого вещества не одинаков. В наружной капсуле и соединительнотканых прослойках общий белок проявляется яркой тёмно-синей окраской, в цитоплазме и ядрах секреторных клеток железы и эпителии выводных протоков окраска светло-синяя. В секрете общий белок не идентифицируется. Свободный катионный белок отсутствует в структурах органа. Цитоплазма glanduloцитов в равной степени с учётом клеток базального слоя проявляет умеренную пиронинофилию.

При контроле с рибонуклеазой степень интенсивности реакции снижается, что свидетельствует о наличии в мускусной препуциальной железе самцов ондатры в конце сентября небольших запасов РНК. В ядрах секреторных клеток базального слоя и glanduloцитов, находящихся ближе к выводным протокам, в небольшом количестве содержится ДНК. Комплекс гистохимических реакций на определение аминокислотных остатков свидетельствует о хорошей качественной реакции glanduloцитов в цитоплазме на лизин и гистидин. В небольшом количестве эти компоненты присутствуют в соединительнотканых прослойках и наружной капсуле. Содержание лизина несколько меньше, чем гистидина. Аргинин в небольшом количестве содержится в ядрах секреторных клеток железы.

К концу последней декады октября морфологические изменения, происходящие в железе, характеризуются увеличением процентного соотношения стромы, увеличением высоты эпителии выводных протоков. При оценке функциональной активности ядер glanduloцитов по методу Яцковского выявлено, что в паренхиме железы преобладают клетки с синей окраской ядер, но наряду с этим встречаются как красные неактивные клетки, содержащие гетерохроматин, так и клетки с промежуточной окраской.

Существенных изменений в распределении и содержании белковых компонентов не наблюдается. Отмечается уменьшение содержания уровня общего белка в цитоплазме и ядрах glanduloцитов, соединительнотканых прослойках и наружной капсуле.

В конце ноября в мускусной препуциальной железе отмечается утолщение междольковых и межацинарных соединительнотканых перегородок. В связи с этим происходит уменьшение диаметра секретирующих ацинусов. Увеличивается количество ацинусов, активно продуцирующих секрет. Просветы некоторых выводных протоков железы лишены секрета, в других виден секрет с остатками цитоплазмы и ядер. Только небольшое количество выводных протоков заполнено сальным секретом. Увеличивается высота эпителии выводных протоков. Строма в процентном соотношении превалирует над паренхимой. При оценке функциональной активности ядер отмечается снижение количества клеток, ядра которых содержат эухроматин.

Анализ уровня содержания белковых компонентов указывает на снижение количества общего белка в цитоплазме и ядрах glanduloцитов, соединительнотканых прослойках и наружной капсуле. Слабая пиронинофилия в цитоплазме секреторных клеток свидетельствует о снижении содержания РНК. Стандартная реакция Фельгена на ДНК в виде слабой розовой окраски отмечается в ядрах glanduloцитов. Снижается интенсивность реакции на лизин и гистидин в цитоплазме glanduloцитов, причём содержание лизина снизилось больше, чем гистидина. Качественная реакция с 8-оксихинолином на выявление аргинина показала отсутствие этого аминокислотного остатка в ядрах секреторных клеток.

К концу декабря, когда у самцов наступает стадия полового покоя, в мускусной препуциальной железе происходят заметные морфологические перестройки. Строма существенно

преобладает над паренхимой. Увеличивается высота эпителия выводных протоков. В большинстве своём преобладают выводные протоки, не содержащие секрета. Вокруг ацинусов образуется мощный остов из волокон соединительной ткани (рис. 1).

При окраске по методу Яцковского большинство ядер гландулоцитов являются неак-

тивными – т. е. содержат гетерохроматин и окрашиваются в красный цвет (рис. 2).

Показатели распределения и содержания общего белка остались на прежнем уровне по сравнению с предыдущим периодом. РНК обнаруживается в виде слабой пиронинофильной реакции в цитоплазме гландулоцитов. Присутствие ДНК в ядрах едва уловимо. Содержание лизина и гистидина незначительное.

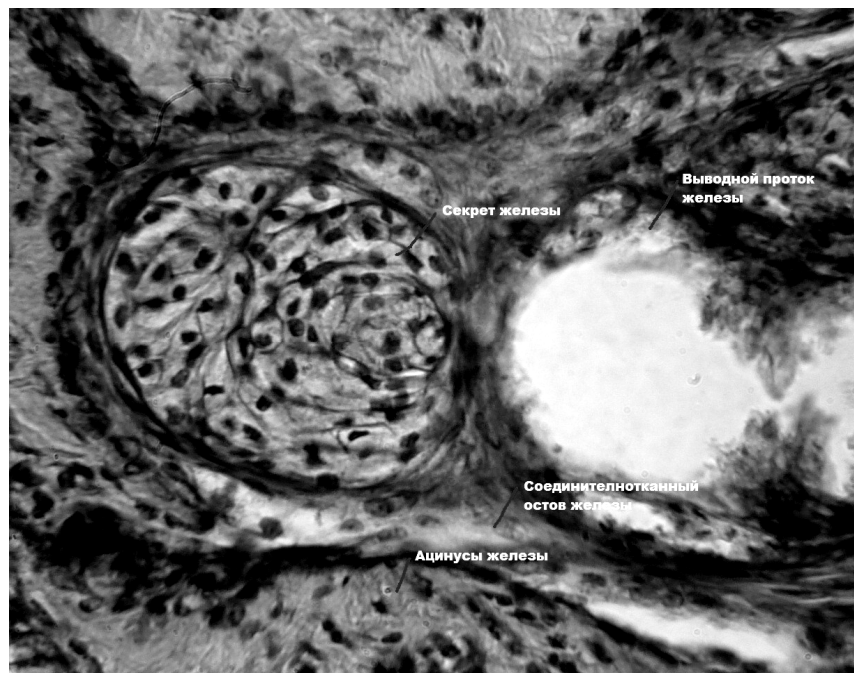


Рис. 1. Гистологическая структура мускусовой препуциальной железы 12-месячного самца ондатры. Последняя декада декабря. Фиксатор: формалин. Окраска сафранин-резорцином по Яцковскому. Об. 40×, ок. 10×

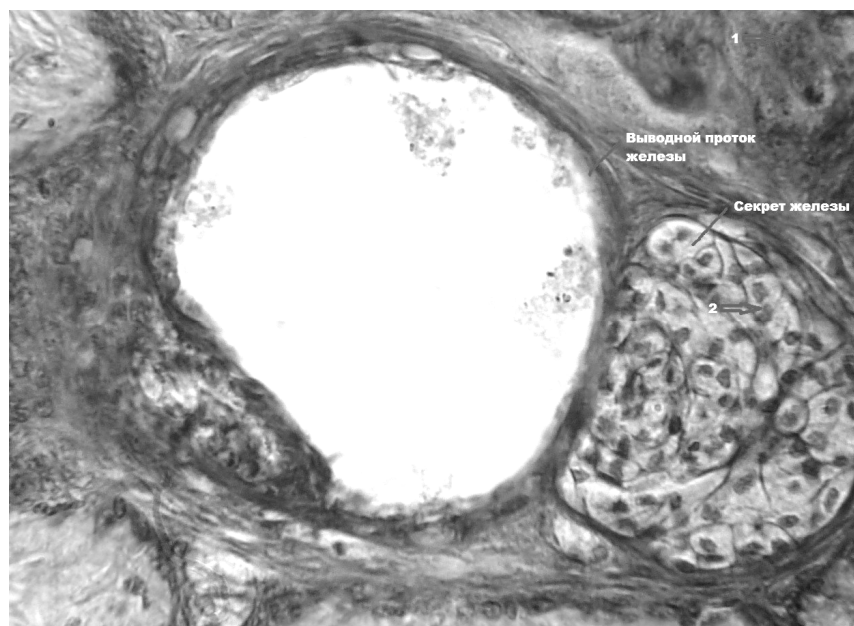


Рис. 2. Гистологическая структура мускусовой препуциальной железы 12-месячного самца ондатры. Последняя декада декабря. Фиксатор: формалин. Окраска сафранин-резорцином по Яцковскому. Об. 40×, ок. 10×. 1 – ядра гландулоцитов, содержащие гетерохроматин; 2 – ядра секрета, содержащие гетерохроматин

Обсуждение

Большинство выводных протоков железы заполнены сальным секретом, что свидетельствует о функциональной активности органа в данный период. Функциональная активность мускусной препуциальной железы напрямую связана с функцией репродуктивной системы ондатры. В течение периода снижения половой активности до наступления стадии полового покоя отмечается угасание функции мускусной препуциальной железы. Об этом свидетельствует уменьшение содержания секреторных клеток с функционально активными ядрами, отсутствие в просветах выводных протоков секрета во время стадии полового покоя, увеличение высоты эпителия выводных протоков и увеличение процентного соотношения стромы по отношению к паренхиме.

Проведённые нами гистохимические реакции подтверждают существование этой функциональной взаимосвязи.

Снижение функции мускусной препуциальной железы во время угасания репродуктивной функции самцов ондатры наглядно демонстрирует динамика изменения содержания гликогена в клетках и тканях железы.

Кроме углеводных компонентов в паренхиме и строме мускусной препуциальной железы самцов ондатры нами выявлены общий белок, РНК, ДНК, лизин, гистидин и аргинин.

Функции белков в клетках живых организмов более разнообразны, чем функции других биополимеров. Белки участвуют в каждом внутреннем процессе клетки; осуществляют обмен веществ и энергетические превращения, входят в состав клеточных структур – органелл или секретируются во внеклеточное пространство и т. д. В тканях мускусной препуциальной железы самцов ондатры уровень содержания общего белка неравномерный. В начале спада половой функции он в значительном количестве содержится в наружной капсуле и соединительнотканых прослойках. Несколько меньше его в цитоплазме и ядрах секреторных клеток и эпителии выводных протоков. В секрете общий белок не идентифицируется. Судя по отсутствию его в секрете в полостях протоков, можно предположить, что он является здесь только структурным либо быстро метаболизируется при созревании клеток. В исследуемый период он расходуется не полностью до конца ноября, с сохранением умеренного запаса в стадии полового покоя. Свободный катионный белок в течение всего рассматриваемого периода в тка-

нях и клетках мускусной препуциальной железы не выявлялся.

Во многих железистых структурах концентрация ДНК и РНК может являться критерием функциональной активности органов. Количество ДНК и РНК, как правило, нарастает с усилением функции. В паренхиме мускусной препуциальной железы самцов ондатры в начале спада половой активности РНК содержится в небольшом количестве, уровень её снижается и становится незначительным во время наступления стадии полового покоя. ДНК в начале снижения репродуктивной функции содержится в небольшом количестве в ядрах секреторных клеток базального слоя и glanduloцитах, находящихся ближе к выводным протокам. Во время стадии полового покоя уровень ДНК в ядрах едва уловим.

Применение комплекса гистохимических реакций с целью выявить аминокислотные остатки в тканевых и клеточных структурах мускусной препуциальной железы у самцов ондатры в начале спада половой активности и при наступлении стадии полового покоя показал, что в цитоплазме glanduloцитов в начале периода в большом количестве содержатся лизин и гистидин. Аргинин в небольшом количестве содержится в ядрах glanduloцитов. Постепенно расходуясь, лизин и гистидин в незначительном количестве обнаруживаются при наступлении стадии полового покоя у самцов ондатры. Аргинин полностью расходуется в конце ноября.

Заключение

Таким образом, нами с применением классических гистологических и современных гистохимических методов исследования проведён анализ гистоморфологии мускусной препуциальной железы самцов ондатры и прослежена динамика содержания в её структурных элементах белковых компонентов в период снижения половой активности у самцов ондатры и наступления у них стадии полового покоя в природно-климатических условиях Байкальского региона. Результаты исследований указывают на наличие тесной физиологической взаимосвязи мускусных препуциальных желёз и органов репродуктивной системы самцов ондатры.

Полученные данные расширяют современные представления о биологии ондатры, особенностях развития и строения их видоспецифичных органов. Обнаружен ряд особенностей в действии факторов среды на морфофункциональные показатели и состояние этих органов.

Полученные данные будут служить основой для конкретизации дальнейших исследований экологии, морфологии и биологии ондатры, а также способствовать разработке региональных ландшафтно-географических принципов рационального использования ресурсов вида.

Литература

1. Азбукина М. Д. О биологическом назначении пахучих желёз и маркировки мускусами у млекопитающих / М. Д. Азбукина, С. А. Корытин // Охота – пушнина – дичь. – 1972. – Вып. 35. – С. 25–29.
2. Дмитриев Б. А. Черты экологии и морфологии ондатры дельты р. Селенга : автореф. дис. ... канд. с.-х. наук / Б. А. Дмитриев. – Иркутск, 1972. – 19 с.
3. Комплексное применение красителей в гистохимическом исследовании белка / М. Г. Шубич [и др.] // Архив АГЭ. – Л. : Медицина, 1975. – Т. 98, вып. 4. – С. 52–58.
4. Лакин Г. Ф. Биометрия / Г. Ф. Лакин. – М. : Высш. шк., 1980. – 293 с.
5. Лили Р. Д. Патогистологическая техника и практическая гистохимия / Р. Д. Лили. – М. : Мир, 1969. – 624 с.
6. Ондатра. Морфология, систематика, экология / В. Е. Соколов [и др.]. – М. : Наука, 1993. – 542 с.
7. Пирс Э. Гистохимия теоретическая и прикладная / Э. Пирс. – М. : Иностран. лит., 1962. – 962 с.
8. Плохинский Н. А. Биометрия / Н. А. Плохинский. – М. : Из-во Моск. ун-та, 1970. – 362 с.
9. Попов А. П. К вопросу о применении дихлортриазиновых красителей в гистохимии / А. П. Попов // Исслед. по морфологии и физиологии с.-х. животных. – Благовещенск, 1981. – С. 36–38.
10. Ромейс Б. Микроскопическая техника / Б. Ромейс. – М. : Иностран. лит-ра, 1953. – 718 с.
11. Роскин Г. И. Микроскопическая техника / Г. И. Роскин, А. Б. Левансон. – М. : Иностран. лит-ра, 1957. – 190 с.
12. Силкин И. И. Модификация метода тетразониевого азосочетания (по Даниелли) с использованием прочного синего Б (по Берстону) / И. И. Силкин, Б. Я. Власов // Вестн. Полтав. гос. аграр. акад. – 2009. – № 2 (53). С. – 68–69.
13. Силкин И. И. Гистофизиология внутренних половых органов самцов ондатры / И. И. Силкин, А. П. Попов. – Иркутск : Изд-во Иркут. гос. ун-та, 2009. – 127 с.
14. Шабадаш С. А. Гепатоидные кожные железы млекопитающих / С. А. Шабадаш, О. Ф. Чернова. – М. : Товарищество науч. изд. КМК, 2006. – 217 с.
15. Яцковский А. Н. Метод оценки функциональной активности клеточных ядер / А. Н. Яцковский // Арх. анат. – 1987. – Т. 92, вып. 1. – С. 76–79.
16. Kurnick N. B. Histochemistry of nucleic acids / N. B. Kurnick // Int. Rev. Cytol. – 1955. – № 4. – P. 221–268.
17. Ringerts N. Cytochemical demonstration of histones and protamines. Mechanism and specificity of the alkaline bromphenol blue binding reaction / N. Ringerts, A. Zetterberg // Exp. Cell. Res. – 1966 – Vol. 42, № 2. – P. 243–259.

Morphological changes and albuminous components content in musky preputial glands of muskrat males depends on the level of sexual activity

T. S. Baltukhaev¹, I. I. Silkin¹, L. F. Sholokhov²

¹Irkutsk State Agricultural Academy, Irkutsk

²Centre of Innovation Medicine of Institute of Pediatrics and Human Reproduction SC ME ISSC SD RAMS, Irkutsk

Abstract. A number of new regularities in morphological changes and distribution of some albumen in cells and tissues of musky preputial glands of muskrat males within the sexual activity recession period are revealed.

Key words: musky preputial glands, muskrat males, sexual activity, albuminous components, gland cells, excretory duct.

Балтухаев Тимур Степанович
ФГБОУ ВПО «Иркутская государственная сельскохозяйственная академия»
664038, Иркутская область, Иркутский район,
пос. Молодежный
учебный мастер
тел. (3952)29–09–75

Силкин Иван Иванович
Иркутская государственная сельскохозяйственная академия
664038, Иркутская область, Иркутский район,
пос. Молодежный
кандидат биологических наук, доцент,

Baltukhaev Timur Stepanovich
Irkutsk State Agricultural Academy
Molodezhny settl., Irkutsk region, 664038
research scientist
phone: (3952)29–09–75

Silkin Ivan Ivanovich
Irkutsk State Agricultural Academy
Molodezhny settl., Irkutsk region, 664038
Ph. D. in Biology, ass. prof.,

заведующий кафедрой внутренних незаразных бо-
лезней, клинической диагностики и фармакологии
тел. (3952)29-09-75
E-mail: ivsi@list.ru

phone: (3952)29-09-75
E-mail: ivsi@list.ru

Шолохов Леонид Федорович
Центр инновационной медицины института педи-
атрии и репродукции человека ГУ НЦ МЭ ВСНЦ СО
РАМН
664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16
доктор медицинских наук, профессор, заведующий
лабораторией эндокринных исследований
тел. (3952)29-09-75
E-mail: LF Shol@mail.ru

Sholokhov Leonid Fedorovich
Centre of Innovation Medicine of Research Institute
of Pediatrics and Human Reproduction
of Scientific Centre of Medical Ecology ISSC SD RAMS
14 Timiryazev St, Irkutsk, 664003
D. Sc. of Medicine, Prof.
phone: (3952)29-09-75
E-mail: LF Shol@mail.ru