

ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE - SKŁODOWSKA
LUBLIN — POLONIA

VOL. XIV, 8

SECTIO D

1959

Z Katedry Histologii i Embriologii Wydziału Lekarskiego Akademii Medycznej w Lublinie
Kierownik: prof. dr med. Stanisław Grzycki

Maciej LATALSKI

Wpływ gonadotropiny łożyskowej na struktury Golgiego w komórkach jajowych szczura białego (*Rattus rattus L. albino*)

Влияние гонадотропного гормона плаценты на структуры Гольджи в яйцеклетках белой крысы (*Rattus rattus L. albino*)

The Effect of Chorionic Gonadotropin on the Golgi Elements in the Ova of the White Rat (*Rattus rattus L. albino*)

Badania licznych autorów nad witellogenезą w dojrzewającej komórce jajowej u różnych zwierząt, a przede wszystkim badania Gatenby i Woodger (1920), Ludforda (1921), Gatenby (1922), Natha (1924), Brambella (1924), Stopoe (1926—1927), Konopackiego (1933—1937), Godlewskiego (1951) i innych przemawiają za udziałem struktur Golgiego w procesie wytwarzania żółtka pierwotnego (tłuszczowego).

Nath i Malhotra (1955) obserwowali w mikroskopie fazowo-kontrastowym żywe jaja ropuchy (*Bufo stomaticus*) i doszli do wniosku, że w najmłodszych oocytach, w których dokoła jądra występował pierścień ziarenek mitochondrialnych, brak było ciałek Golgiego. W nieco starszych oocytach, kiedy pierścień mitochondrialny oddalił się od błony jądrowej, widoczne były całkiem wyraźnie ciała Golgiego, rozmieszczone wewnątrz pierścienia mitochondrialnego. Ciała Golgiego miały wygląd pęcherzyków, w których można było zauważyć nie barwiącą się wakuolę wewnętrzną, otoczoną osmochlonną błoną zewnętrzną. Zastosowanie metod Aoyamy (srebrawa) i Champyego pozwoliło wyczernić ciała Golgiego, które miały wygląd ziarenek. Nath i Malhotra w starszych oocytach obserwowali przesunięcie się pierścienia mitochondrialnego na obwód komórki, a następnie powrót jego do strefy przyjądrowej, przy czym ciała Golgiego były rozsypane po całej protoplazmie.

Obserwacje Vishwa Nath (1930) nad jajami *Pheretima posthuma*, Bhandari i Nath (1930) nad jajami *Dysdercus cingulatus*, Nath i Nangia (1931) nad jajami *Rita rita* i *Ophiocephalus punctatus* oraz obserwacje Nath i Dhawan (1955) nad jajami *Crossopriza lyoni* stwierdziły również, że struktury Golgiego w komórkach jajowych mają wygląd drobnych ziarenek i pęcherzyków, w których daje się zauważyć *Golgi internum* i *Golgi externum* (system sferoidalny Golgi-Thomasa). Rozmieszczenie i wielkość struktur Golgiego są różne nie tylko w jajach różnych gatunków zwierząt, ale także w różnych stadiach rozwojowych jaja u tego samego gatunku.

W dostępnej mi literaturze nie znalazłem prac nad zachowaniem się struktur Golgiego w komórkach jajowych ssaków, postanowiłem więc zająć się tym zagadnieniem i przeprowadzić obserwacje w warunkach doświadczalnych, przez wstrzykiwanie dziewiczemu szczurom białym gonadotropiny łożyskowej. Gonadotropina łożyskowa u zwierząt nie pozbawionych przysadek mózgowych wywołuje wzrost pęcherzyków Graffa i luteinizację komórek ziarnistych. Oprócz tego prawdopodobnie działa ona pobudzająco na proces jajczkowania.

MATERIAŁ I METODYKA BADAŃ

Szczury białe (*Rattus rattus L. albino*), 45-tygodniowe, dziewicze samiczki, wagi około 150 g podzielono na 4 grupy doświadczalne. Pierwszą grupę (5 sztuk) stanowiły zwierzęta kontrolne, grupy drugą i trzecią (po 10 sztuk) zwierzęta doświadczalne, którym wstrzykiwano domięśniowo gonadotropinę łożyskową (*Gonadotrophin chorionic fabr. Botica* — Węgry). Zwierzęta drugiej grupy doświadczalnej otrzymały jednorazowo 10 j. m., natomiast zwierzęta trzeciej grupy po 30 j. m. jednorazowo. Materiał do badań pobierano 50 godzin po zastrzyku. Czwartą grupę doświadczalną (5 sztuk) stanowiły osobniki, którym wstrzykiwano jednorazowo domięśniowo płyn fizjologiczny w ilości 1 ml.

Struktury Golgiego wyczerowano solami srebra wg metod Cajala, Da Fano i Srivastava. Skrawki mikrotomowe grubości 6—8 mikronów po odparafinowaniu nie podbarwiano i zamykano w balsamie kanadyjskim. Oprócz metod srebrowych zastosowano również barwienie skrawków hematoksyliną i eozyną po utrwaleniu jajników formaliną obojętną 1:10. W ten sposób dla celów przeglądowych barwiono po dwa jajniki z każdej grupy zwierząt.

BADANIA WŁASNE

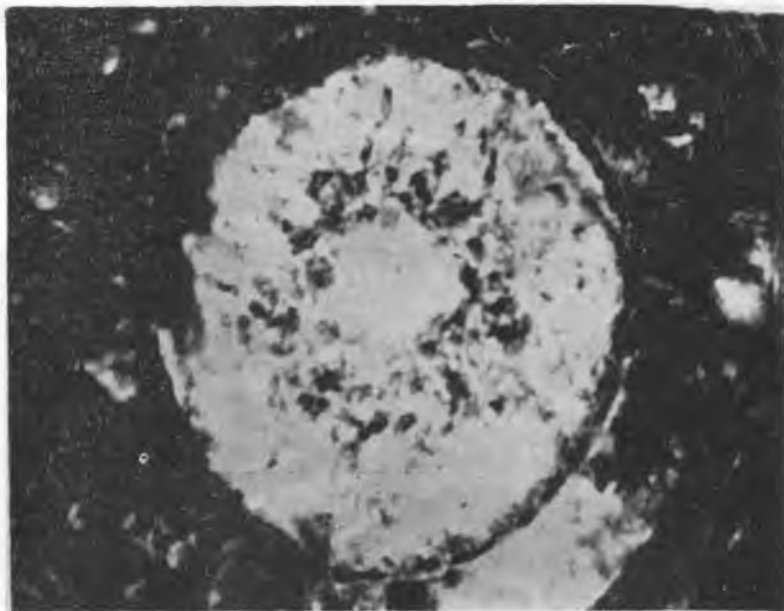
I.

Szczury białe, samice, kontrolne. Jajniki pobierane do badań utrwalono wg metod Cajala, Da Fano i Srivastava oraz w formalinie obojętnej 1:10. Średnica oocytów od 30—60 mikronów (bez osłonki przezroczystej).

Nath i Malhotra, Nath i Dhawan, Bhandari i Nath, Nath i Nangia oraz inni zgodnie podkreślają, że struktury Golgiego w żywych komórkach jajowych młodych i dojrzewających różnych zwierząt, obserwowane w mikroskopie fazowo-kontrastowym utworzone

są z ziarenek i systemów Golgiego zgrupowanych przeważnie w strefie dokołajądrowej.

Na preparatach naszych, uzyskanych po zastosowaniu metod Cajala, Da Fano i Srivastava elementy Golgiego były zgrupowane tylko wokół jądra komórki (ryc. 1). Rozmieszczenie ich nie było zależne od wielkości



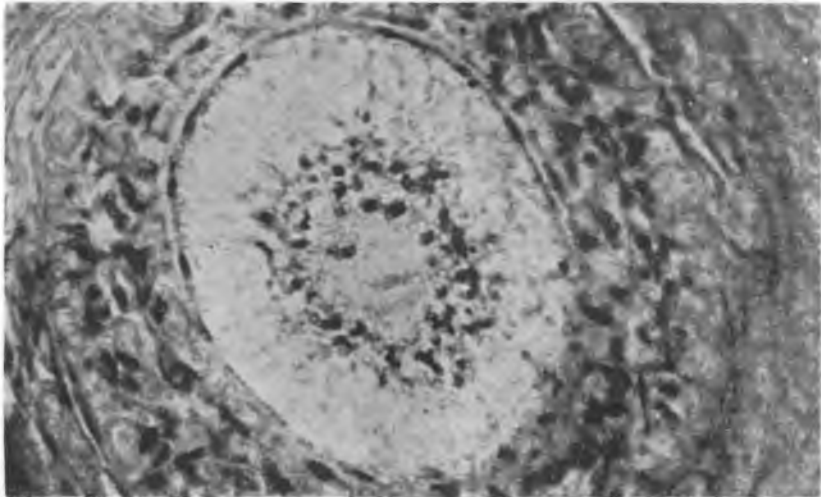
Ryc. 1. Szczur biały. Oocyt średnicy 35 mikronów. Preparat kontrolny. Impregnacja wg metody Cajala. Elementy Golgiego zgrupowane tylko wokół jądra komórki. Drobne ziarenka nie tworzą pałeczek ani niteczek. Ziarenka większe występują nielicznie i umiejscowione są zawsze w pewnym oddaleniu od siebie. Mikrofot. ROW. Powiększenie ca 3000 X.

oocytów. Drobne ziarenka, rozrzucone luźno w obrębie strefy dokołajądrowej nie tworzyły niteczek ani pałeczek. Prócz drobnych zaobserwowano także niewielką ilość ziarenek większych, umiejscowionych zawsze w pewnym oddaleniu od siebie. Stosunkowo najmniej licznymi elementami Golgiego były ciała systemowe Golgiego, widoczne tylko w oocytach dużych. Wielkość ciałek systemowych była różna. Wewnątrz zawierały one niezabarwioną wakuolę. Poza strefą dokołajądrową elementy Golgiego nie występowały.

II.

Szczury białe, samice, otrzymały jednorazowo domięśniowo 10 j. m. gonadotropiny. Jajniki pobrane do badań 50 godzin po zastrzyku utrwalano wg metod Cajala, Da Fano i Srivastava oraz w formalinie obojętnej 1:10. Średnica oocytów wynosiła od 35 do 120 mikronów (bez osłonki przezroczystej).

We wszystkich oocytach małych, średniej wielkości i dużych elementy Golgiego zgrupowane były wyłącznie w strefie dokołajądrowej (ryc. 2). Małe ziarenka Golgiego układały się obok siebie, tworząc krótkie, różańcowate pałeczki. Ziarenka większe natomiast występowały zawsze pojedynczo i można było obserwować w nich obwodowe różnicowanie się osłonki zewnętrznej, bardziej chromochłonnej niż słabiej barwiący się środek ziarenka. Na preparatach z tej serii badań zwraca także uwagę zwiększona ilość ciałek sferoidalnych, posiadających różnej grubości chromochłonną osłonkę *Golgi externum*. *Externum* albo pierścieniowato otaczało wakuolę wewnętrzną, albo tylko częściowo, bądź było ograniczone do kilku wysrebrzonych ziarenek przylegających ściśle do niezabarwionej wakuoli. *Golgi internum* pozostawało zawsze niezabarwione.



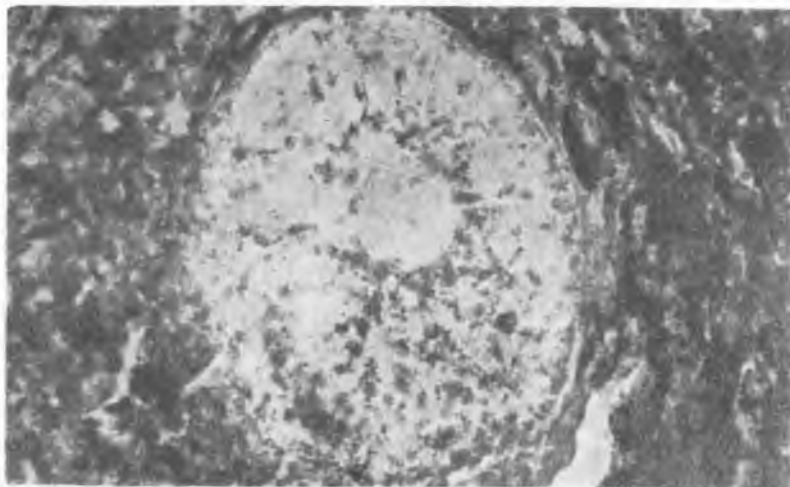
Ryc. 2. Szczur biały. Oocyt średnicy 60 mikronów po podaniu 10 j. m. gonadotropiny. Impregnacja wg metody Da Fano. Elementy Golgiego zgrupowane wyłącznie w strefie dokołajądrowej. Małe ziarenka układają się obok siebie tworząc krótkie, różańcowate pałeczki. W ziarenkach większych widoczna bardziej chromochłonna osłonka zewnętrzna. Mikrofot. ROW. Powiększenie ca 2400 X.

Dokołajądrowa strefa struktur Golgiego nie we wszystkich komórkach miała jednakową szerokość. W oocytach małych i średniej wielkości strefa ta była wąska, natomiast w oocytach dużych — szeroka, a nawet obserwowało się odcinkowe jej poszerzenie, spowodowane zwiększonym nagromadzeniem się elementów Golgiego. W niektórych oocytach dużych można było także zauważyć występowanie pojedynczych ziarenek lub ciałek sferoidalnych w obwodowych strefach protoplazmy, zawsze jednak w niewielkiej odległości od strefy struktur Golgiego.

III.

Szczury białe, samice, otrzymały jednorazowo domięśniowo 30 j. m. gonadotropiny. Jajniki pobrane do badań 50 godzin po zastrzyku utrwalano wg metod Cajala, Da Fano i Srivastava oraz w formalinie obojętnej 1:10. Średnica oocytów od 35 do 120 mikronów (bez osłonki przezroczystej).

W oocytach małych (o średnicy 35—50 mikronów), ziarenka Golgiego pojedyncze i tworzące różańcowate pałeczki, a przede wszystkim ciała sferoidalne występowały w dużej ilości, nierównomiernie rozrzucone po protoplazmie. Zagęszczenie struktur Golgiego widoczne było w strefie dokołajądrowej. (ryc. 3).



Ryc. 3. Szczur biały. Oocyt średnicy 50 mikronów po podaniu 30 j. m. gonadotropiny. Impregnacja wg metody Cajala. Ziarenka Golgiego pojedyncze i tworzące różańcowate pałeczki oraz ciała sferoidalne występują w dużej ilości i są nierównomiernie rozrzucone po protoplazmie. W strefie dokołajądrowej widoczne zagęszczenie struktur Golgiego. Mikrofot. ROW. Powiększenie ca 2400 X.

W oocytach starszych (o średnicy 60—80 mikronów) nagromadzenie elementów Golgiego w strefie dokołajądrowej było tak duże, iż pozwalało sądzić, że właśnie dokoła jądra znajduje się pole Golgiego. Wytworzeniu się pola Golgiego odpowiadało zmniejszenie się lub prawie całkowity zanik elementów Golgiego w częściach obwodowych komórki.

W oocytach o średnicy 90—120 mikronów w polu Golgiego obserwowano się przeważnie ciała sferoidalne, które posiadały dużą, nie zabarwioną wakuolę wewnętrzną i chromochłonne *externum*. Wielkość *internum* w różnych ciałkach sferoidalnych była różna, podobnie zresztą jak i grubość wyczerpniętej osłonki *externum*. Duże, nie zabarwione wakuole wewnętrzne otaczała zwykle bardzo cienka osłonka *Golgi externum*.

IV.

Szczury białe, samice, otrzymały jednorazowo, domięśniowo 1 ml płynu fizjologicznego (0,89% NaCl). Jajniki pobrane do badań 50 godzin po zastrzyku utrwalano wg metod Cajala, Da Fano i Srivastava oraz w formalinie obojętnej 1:10. Średnica oocytów od 35 do 60 mikronów (bez osłonki przezroczystej).

We wszystkich oocytach elementy Golgiego zgrupowane były w niewielkiej ilości dokoła jądra komórki. Ciałek sferoidalnych mało. Ziarenka Golgiego małe i duże, rozsypane pojedynczo, nie tworzyły ani pałeczek ani niteczek. Brak elementów Golgiego poza strefą przyjądrową. Obrazy uzyskane na tych preparatach przypominały obrazy uzyskane w pierwszej grupie doświadczalnej (kontrolnej).

OMÓWIENIE WYNIKÓW I WNIOSKI

Analiza mikroskopowa struktur Golgiego w jajach szczurów białych, pozostających pod wpływem 10 j. m. i 30 j. m. gonadotropiny łożyskowej pozwoliła odróżnić zasadniczo tylko ziarenka Golgiego i ciała sferoidalne Golgi-Thomasa. Te dwa typy struktur stanowiły podstawowe elementy Golgiego spotykane w oocytach różnej wielkości, a zatem były one charakterystyczne dla wszystkich oocytów w całym procesie oogenezy. Opisywane więc przez Harvey (1931) i Normintona (1937) a także przez Stopoe (1926) pałeczki i niteczki Golgiego wydają się być albo tworamii sztucznymi, powstałymi pod wpływem działania płynów utrwalających, albo tworamii utworzonymi z małych, chromochłonnych ziarenek Golgiego, układających się w krótkie lub długie szeregi.

Małe ziarenka Golgiego, które prawdopodobnie są presubstancją Hirscha, rosnąc, stopniowo przeobrażały się w pęcherzyki systemów sferoidalnych Golgiego, posiadających chromochłonną osłonkę zewnętrzną — *externum* i chromofobną wakuolę wewnętrzną — *internum*. Proces przemian ziarenek w ciała systemowe wzrastał się w miarę wzrostu oocytu. Proces ten został przyspieszony po podaniu gonadotropiny łożyskowej, co wyrażało się zwiększeniem ilości ciałek sferoidalnych i rozmieszczeniem ich po całej protoplazmie. W małych oocytach (35—50 mikronów) bowiem i w okresie wzrostu (60—80 mikronów) elementy Golgiego umiejscowione były zwykle dokoła jądra i tworzyły strefę Golgiego. W oocytach dużych (90—120 mikronów) natomiast elementy Golgiego rozsiane były po całej protoplazmie, przy czym obserwowano zagęszczenie ich w strefie dokołajądrowej a brak w cytoplazmie obwodowej.

Na przemiany ziarenek w ciała systemowe Golgiego zwrócili już uwagę Nath i Nangia (1931), zaś Gatenby (1922), Nath (1924), Brambell (1924) i inni wskazywali bezpośredni udział struktur Golgiego w procesie witellogenezy. Wszyscy autorzy zgodnie podkreślają, że wytwarzanie żółtka pierwotnego odbywa się przy udziale struktur Golgiego.

Umiejscowienie struktur Golgiego oraz ich wzrost ilościowy i jakościowy w oocytach dużych obserwowane w naszych doświadczeniach pozwalają przypuszczać, że struktury Golgiego pozostają w ścisłym związku nie tylko z procesem kształtowania się i dojrzewania oocytów, ale prawdopodobnie także z procesem tworzenia się żółtka.

PIŚMIENNICTWO

1. Bhandari K. G., Nath V.: Z. Zellforsch. 10, 604, 1930;
2. Brambell F. W. R.: Brit. J. Exper. Biol. 1, 501, 1924;
3. Gatenby J. B.: Quart. J. Microsc. Sci. 66, 1, 1922;
4. Gatenby J. B., Woodger J. H.: J. Roy. Microsc. Soc. 40, 129, 1920;
5. Godlewski H.: Rozpr. Wydz. Mat. Przyr. PAU, B. 74; Ser. III, tom 34, 190, 1951;
6. Harvey L. A.: Quart. J. Microsc. Sci. 74, 235, 1931;
7. Konopacki M.: Bull. Histol. appl. 4, 40, 1927;
8. Konopacki M.: Bull. Ac. Pol. Sc. et Let. II, B, 51, 1933;
9. Ludford R. J.: J. Roy. Microsc. Soc. 41, 1, 1921;
10. Nath V.: Proc. Camb. Phil. Soc. Biol. Sci. 1, 148, 1924;
11. Nath V.: Quart. J. Microsc. Sci. 73, 477, 1930;
12. Nath V., Dhawan R. M.: Research Bull. Panjab Univ. 70, 55, 1955;
13. Nath V., Nangia M. D.: J. Morphol. a. Physiol. 52, 277, 1931;
14. Nath V., Malhotra S. K.: Research Bull. Panjab Univ. 68, 39, 1955;
15. Norminton G. M.: Quart. J. Microsc. Sci. 79, 471, 1937;
16. Stopoe I.: C. R. Soc. Biol. 95, 142, 1926.

РЕЗЮМЕ

Микроскопический анализ элементов Гольджи, содержащихся в яйцеклетках белых крыс, находящихся под влиянием 10 м.е. и 30 м.е. *Gonadotrophin chorionic fabr. Botica*, позволил в основном обнаружить лишь зернышка и сфероидные тельца Гольджи. Эти два типа образований представляли собой основные элементы Гольджи, наблюдаемые в яйцеклетках различной величины, следовательно являются характерными для всех яйцеклеток, переходивших разные степени развития во время процесса овогенеза.

Расположение, количественное возрастание и качественная картина элементов Гольджи в яйцеклетках белых крыс, наблюдаемые в исследованиях производимых автором, позволяют выдвинуть предположение, что структурные элементы Гольджи остаются в тесной связи не только с процессом формирования и созревания яйцеклеток, но и, вероятно, с процессом образования желтка.

ОБЪЯСНЕНИЯ К РИСУНКАМ

Рис. 1. Белая крыса. Яйцеклетка диаметром в 35 микронов. Контрольный препарат. Импрегнация по методу Кахала. Элементы Гольджи группируются исключительно вокруг ядра клетки. Мелкие зернышка не образуют ни палочек ни нитей. Более крупные зерна выступают редко и расположены всегда на некотором расстоянии друг от друга. Микрофот. ROW. Увел. ок. 3000 X.

Рис. 2. Белая крыса. Яйцеклетка диаметром в 60 микронов после подачи животному 10 м. е. гонадотропного гормона плаценты. Импрегнация по методу Да Фано. Структурные элементы Гольджи сгруппированы исключительно в околоядерной зоне. Мелкие зернышка укладываются друг возле друга, образуя короткие, четковидные палочки. В более крупных зернышках видна, обладающая более сильными хромофильными свойствами, внешняя оболочка. Микрофот. ROW. Увел. ок. 2400 X.

Рис. 3. Белая крыса. Яйцеклетка диаметром в 50 микронов после подачи 30 м. е. гонадотропного гормона плаценты. Импрегнация по методу Кахала. Зернышки Гольджи, одиночные или образующие четковидные палочки, а также сфероидные тельца, выступают в большом количестве и рассеяны неравномерно во всей протоплазме. В околоядерной зоне видно сгущение элементов Гольджи. Микрофот. ROW. Увел. ок. 2400 X.

SUMMARY

Microscopic examination of the Golgi elements in the ova of a white rat treated with 10 and 30 I. U. of chorionic gonadotropin (Gonadotrophin chorionic prod. by Botica, Hungary) enabled the author to distinguish only the Golgi granules and spheroidal corpuscles. These two types of the Golgi structure were the basic Golgi elements found in the oocytes taking part in the process of oogenesis.

Judging by the location and quantitative and qualitative growth of the Golgi structure in oocytes, as observed in the author's experiments, it may be supposed that the elements of the Golgi structure are involved not only in the formation and maturation of oocytes, but also probably in the formation of the yolk.

EXPLANATION of FIGURES

Fig. 1. The white rat. The oocyte 35 μ in diameter. The control preparation. Impregnation performed by Cajal's method. The Golgi elements are gathered only around the nucleus of the cell. Small granules form neither rods nor threads. Larger granules occur in small numbers and are always situated at some distance from one another. The photomicrograph was taken with a Rathenow (ROW) microscope. X c. 3000.

Fig. 2. The white rat. The oocyte, 60 μ in diameter, from a rat previously injected with 10 I. U. of gonadotropin. Impregnation performed by Da Fano's method. The Golgi elements are gathered only in the perinuclear zone. Small granules are situated near one another and form short, crenated rods. Larger granules show a more chromatophilic external sheath. The photomicrograph was taken with a Rathenow (ROW) microscope. X c. 2400.

Fig. 3. The white rat. The oocyte, 50 μ in diameter, from the rat injected with 30 I. U. of gonadotropin. Impregnation performed by Cajal's method. Single Golgi granules, spheroidal corpuscles and Golgi granules forming crenated rods occur in great numbers and they are not uniformly distributed in the protoplasm. The Golgi elements are gathered chiefly in the perinuclear zone. The photomicrograph was taken with a Rathenow (ROW) microscope. X c. 2400.