

Samodzielna Pracownia Mikroskopii Elektronowej. Instytut Biologiczno-Morfologiczny.
Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: prof. dr hab. Maciej Latański
Klinika Urologii. Instytut Chirurgii. Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: doc. dr hab. Tadeusz Spruch

Maciej LATALSKI, Daniela OBUCHOWSKA,
Tadeusz SPRUCH

**Obserwacje ultrastruktury komórek nabłonkowych
pęcherzyków nasiennych szczura w warunkach zahamowania czynności
gonadotropowej przedniego płata przysadki mózgowej**

Исследование ультраструктуры эпителиальных клеток семенных пузырьков у крыс в условиях заторможения гонадотропной функции передней доли нижнего мозгового придатка

Observations of the Ultrastructure of Epithelial Cells of Seminal Vesicles in Rats with Inhibited Gonadotrophic Activity of the Front Lobe of Hypophysis

Celem pracy było przeanalizowanie obrazu ultrastrukturalnego komórek wydzielniczych nabłonka pęcherzyków nasiennych szczura w warunkach hamowania gonadotropowej czynności układu: przedni płat przysadki mózgowej—międzymózgowie. Wprawdzie rola przysadki mózgowej w odniesieniu do gruczołów płciowych jest znana, ale większość prac dotyczy jej operacyjnego usunięcia lub zniszczenia, a obiektem obserwacji są częścię gonady niż gruczoły płciowe dodatkowe.

W założonym eksperymencie posłużono się środkiem farmakologicznym o nazwie Depostat (firmy Schering AG Berlin/Bergkamen). Depostat (gestonoroncapronat w roztworze olejowym), stosowany między innymi w przypadku gruczolaka prostaty, jest preparatem wykazującym przedłużone działanie gestagenne. W dawkach powyżej 100 mg (w odniesieniu do ludzi) działa antygonadotropowo (tj. hamująco na układ: przedni płat przysadki—międzymózgowie). Działanie antygonadotropowe Depostatu jest silniejsze od innych gestagenów, np. progesteronu.

Z badań farmakologicznych wynika, że gestonoroncapronat jest związkiem stabilnym i sam stanowi substancję działającą. Badania kliniczne i eksperymentalne wykazały, że Depostat nie wywiera wpływu na nadnercza, może natomiast poza

działaniem gonadotropowym oddziaływać bezpośrednio na dodatkowe gruczoły płciowe (2).

MATERIAŁ I METODYKA

Badania przeprowadzono na szczurach białych (*Rattus, rattus L. albino*), samcach, o c.c. ok. 350 g. Zwierzęta podzielono na 3 grupy doświadczalne i jedną kontrolną. Szczurom doświadczalnym wykonywano 1 raz w tygodniu, dootrzewnowo, iniekcje Depostat (gestonoroncapronat w roztworze olejowym), 2,8 mg/kg odpowiednio przez okres 3, 5 i 8 tygodni. Dawkę preparatu i czas jego podawania oparto o założenia terapeutyczne dla chorych na gruczolaka stercza.

Pobrane w narkozie eterowej wycinki pęcherzyków nasiennych utrwalano w 6% roztworze aldehydu glutarowego zbuforowanego do pH 7,2 buforem kakodylowym przez 2 godz. w temp. 0—4°C. Po przepłukaniu w zimnym buforze wycinki dotrwalało w takich samych warunkach, lecz przy użyciu 1% roztworu OsO₄. Po utrwaleniu i odwodnieniu materiał zatapiało w Eponie 812. Skrawki krojono na ultramikrotomie Tesla BS 490 (CSRS), a następnie oglądano i fotografowano w mikroskopie elektronowym Tesla BS 613 (CSRS).

BADANIA WŁASNE

Grupa kontrolna. Nabłonek wyścielający pęcherzyki nasienne składał się z dwóch typów komórek: cylindrycznych (wydzielniczych) i bazalnych. Pierwsze z nich opierały się o błonę podstawową bądź o szczyty komórek bazalnych, drugie zaś leżały na błonie podstawowej, wkliniowując się między komórki wydzielnicze.

Komórki wydzielnicze na swojej wolnej powierzchni posiadały mikroskoki. W strefie szczytowej komórek występowały ziarna wydzieliny. Każde ziarno, otoczone pojedynczą błoną, utworzone było z dwóch rodzajów substancji, ułożonej zewnętrznie, elektronowo jasnej i wewnętrznej — ciemnej. Obok ziaren wydzieliny obserwowano nieliczne błony szorstkie, występujące parami, w postaci krótkich kanalików. W strefach okołojądrowej i podstawnej komórek błony ergastoplazmy występowały dość obficie. W okolicy nadjądrowej obserwowano także struktury Golgiego. Mitochondria o typowej budowie spotykano głównie w okolicy jądra i w części nadjądrowej komórek. W komórkach wydzielniczych, zwykle przy podstawie, występowały w niewielkich ilościach lizosomy.

Komórki bazalne spotykane pojedynczo, posiadały zwykle owalne kształty. Cytoplazma tych komórek była elektronowo jasna i uboga w organelle. Znajdowały się w niej nieliczne, słabo wykształcone elementy błoniste, gładkopowierzchniowe pęcherzyki, pojedyncze mitochondria i wolno leżące nieliczne rybosomy. Obraz ultrastrukturalny badanych komórek nie odbiegał zatem od wcześniej przez nas opisywanego u tego gatunku zwierząt (7, 9).

Grupa I doświadczalna (ryc. 1—2). Po trzech tygodniach podawania Depostatu w ultrastrukturze komórek wydzielniczych wystąpiły zmiany. Nastąpiło wyraźne zmniejszenie ilości ziaren wydzieliny w części szczytowej komórek (ryc. 1). Pojawiły się różnej wielkości wakuole, będące prawdopodobnie pozostałością po ziarnach wydzieliny (ryc. 1). Sporadycznie zauważano ziarna o prawidłowym wyglądzie. W opisywanej strefie można było zauważyć w niektórych komórkach poszerzenie kanałów siatki śródplazmatycznej i struktur Golgiego (ryc. 1). Elementy siatki endoplazmatycznej w znacznie większym stopniu ulegały poszerzeniu w partiach przypodstawnych komórek (ryc. 2). W grupie tej obserwowano i takie komórki, w których powyższe zmiany miały bardzo duży stopień nasilenia, a ponadto występowały struktury określone jako torbielowate. Te struktury otaczała błona szorstka, przechodząca miejscami w gładką. W przypadkach gdy zajmowały one znaczną część cytoplazmy, okalająca błona była na pewnych odcinkach poprzerrywana. Pęcherzyki i torbielowate struktury wypełniał materiał o małym zróżnicowaniu i małej gęstości elektronowej. Pomiedzy elementami siatki śródplazmatycznej, głównie przy podstawie komórek, występowały w zwiększonej ilości lizosomy (ryc. 2). Przeważały lizosomy wtórne, w których wnętrzu obserwowano znaczne ilości zróżnicowanego elektronowo, gęstego materiału. Można było dostrzec fragmenty błon i rybosomy. W pobliżu błony podstawowej znajdowano krople lipidowe w znacznie większych ilościach niż w komórkach grupy kontrolnej zwierząt. Jądra komórkowe i pozostałe organelle nie wykazywały istotnych różnic. W komórkach bazalnych istotnych różnic również nie dostrzegano.

Grupa II doświadczalna (ryc. 3—5). Po 5 tygodniach podawania preparatu w partiach szczytowych komórek wydzielniczych miało miejsce poszerzenie kanałów siatki śródplazmatycznej. Obejmowało ono większą liczbę komórek niż po 3 tygodniach podawania leku. Ziarna wydzieliny występowały nielicznie. W większości ziaren stwierdzano przerwanie ciągłości ich otoczek, zlewanie się zawartości i pojawianie się w ich obrębie struktur błoniastych (ryc. 3). W wielu komórkach omawianej grupy obserwowano dość liczne, mniejsze i większe wakuole o bardzo zróżnicowanym wyglądzie. Otaczała je jedna lub kilka błon, zwykle błona zewnętrzna była gładka, a wewnętrzne — ziarniste (ryc. 4). Czasem w ich wnętrzu można było zauważyć mitochondria. Poza opisanymi wakuolami na terenie cytoplazmy stwierdzano lizosomy wtórne w ilościach zbliżonych do obserwowanych w grupie I doświadczalnej (ryc. 5). Opisane wyżej wakuole autofagowe i lizosomy wtórne zlokalizowane były głównie w strefach okołojądrowej i przypodstawnej komórek. Podobnie jak w poprzedniej grupie, tak i w tej dochodziło do poszerzenia sieci śródplazmatycznej, co było szczególnie nasilone w części przypodstawnej ko-

mórek (ryc. 5). Jądra komórek wydzielniczych i pozostałe struktury cytoplazmatyczne wyraźnych odchyień od normy nie wykazywały.

W komórkach bazalnych w porównaniu z kontrolą stwierdzano pewne różnice. W cytoplazmie tych komórek pojawiły się wakuole autofagowe o wyglądzie zbliżonym do tychże w komórkach wydzielniczych (ryc. 5). Ponadto obserwowano wakuole zawierające ziarnisty, elektronowo gęsty materiał, a także struktury przypominające mielinę (ryc. 5). Poza wyżej opisanymi strukturami w komórkach bazalnych omawianej grupy stwierdzano także większą niż w kontroli ilość krótkich fragmentów podwójnych błon, tak szorstkich, jak i gładkich (ryc. 5).

Grupa III doświadczalna (ryc. 6—8). Po 8 tygodniach podawania Depostatu w komórkach wydzielniczych obserwowano nasilenie się zmian (poszerzenie) dotyczących elementów siatki śródplazmatycznej. Natomiast ilość pęcherzyków i wakuoli autofagowych była mniejsza niż w grupie II doświadczalnej. W tej grupie obrzmieniu uległy także mitochondria (ryc. 6, 7), które w poprzednich grupach wyraźnych odchyień od normy nie wykazywały. Ziarna wydzieliny występowały w małych ilościach, podobnie jak w grupach I i II doświadczalnych. Notowano w nich zmiany tego typu co w grupie II doświadczalnej. W odróżnieniu od ostatnio opisywanej grupy, po 8 tygodniach podawania preparatu w komórkach wydzielniczych obserwowano znacznie mniej lizosomów wtórnych (ryc. 6, 7). Sporadycznie spotykano duże struktury, otoczone podwójną błoną ze śladami mitochondriów wewnątrz i strukturami błoniaszymi (ryc. 7). Zlokalizowane one były w strefie okołojądrowej komórek. Jądra komórkowe pozostawały nie zmienione.

Komórki bazalne w porównaniu z kontrolą były większe i posiadały faliste obrysy (ryc. 8). Cytoplazma tych komórek była jasna, a organelle komórkowe występowały w skąpych ilościach. Nie spotykano w nich lizosomów.

DYSKUSJA

Badania mikroskopowo-elektronowe pęcherzyków nasiennych szczura pod wpływem Depostatu wykazały zmiany szczególnie w tych strukturach komórkowych, które biorą udział w tworzeniu wydzieliny. Stwierdzono poszerzenie retikulum endoplazmatycznego, a także powstawanie pęcherzyków z błon siatki śródplazmatycznej (transformacja pęcherzykowa). Poszerzeniu uległa także strefa Golgiego. Ilość ziaren wydzieliny zmniejszyła się. Ale poza tymi zmianami zaobserwowano także zwiększenie ilości wakuoli autofagowych i lizosomów oraz pojawienie się kropli lipidowych. W ostatniej grupie, tj. po 8 tygodniach podawania leku, stwierdzono także zmiany w mitochondriach.

Podobne zmiany, świadczące o zahamowaniu procesów wydzielniczych, stwierdzili L o v i n g i wsp. (8), badając wycinki pęcherzyków nasiennych szczurów pod wpływem antyandrogenu (*Cyproterone acetate*). D a h l i wsp. (1) wykazali, że Chlormadinon powoduje także tego typu zmiany, co czynniki antyandrogenne. Autorzy obu prac są zgodni co do tego, że zmiany zarówno po antyandrogenach, jak i hormonach żeńskich są podobne do zmian pokastracyjnych. W tym miejscu w oparciu o wyniki własne możemy uzupełnić, że zmiany po Depostacie, który nie posiada ani antyandrogennych ani androgennych czy estrogennych właściwości (2), są analogiczne do zmian pokastracyjnych. Stąd można by przypuszczać, że podawanie Depostatu prowadzi do obserwowanych zmian poprzez wyłączenie gonadotropowej czynności przysadki mózgowej.

W naszych badaniach stwierdzono duże zmiany w obrębie błon retikulum endoplazmatycznego, ściśle związane z tworzeniem się wakuoli autofagowych. Obserwowaliśmy także zwiększenie ilości lizosomów wtórnych z wyraźnie osmofilnym materiałem. Zmiany tego typu, zdaniem K o v á c s a (3) pojawiają się w komórce pod wpływem różnych czynników uszkadzających, np. czerwieni obojętnej, chlorku kadmu czy sacharozy. Ale nie tylko. Ten sam autor w innej swojej pracy (4) opisuje wakuole autofagowe powstające w komórkach pęcherzyków nasiennych myszy pod wpływem actinomycyny D i octanu estronu. Zdaniem K o v á c s a i wsp. (5, 6) nagromadzenie lizosomów w komórkach pęcherzyków nasiennych pozostaje w ścisłym związku z przemianami obejmującymi błony ER. Dzieje się tak dlatego, ponieważ w komórkach tych gruczołów nie ma typowego GERL, charakterystycznego układu partycypującego w powstawaniu lizosomów, a spotykanego w komórkach wydzielniczych innych narządów. Lizosomy w zwiększonej ilości spotyka się u starych zwierząt, jak też po kastracji. Powstają one w wyniku destrukcji produktów cytoplazmy.

A zatem otrzymane obrazy ultrastrukturalne badanych przez nas komórek poza zmianami wstecznymi o charakterze ilościowym wykazują także zmiany jakościowe, degeneracyjne. Można więc sądzić, że poza działaniem pośrednim poprzez układ: przysadka mózgowa—międzymózgowie Depostat wywiera także działanie bezpośrednie na gruczoły płciowe dodatkowe. Przejawia się to uszkodzeniem „typu toksycznego” komórek nabłonkowych pęcherzyków nasiennych.

H a h n i wsp. (2) badali wpływ 19-nor-17-hydroksycapronatu progesteronu na dodatkowe gruczoły płciowe. Jest to związek spokrewniony chemicznie z Depostatem. Autorzy ci stwierdzili, że związek ten powoduje zmiany w prostatie i pęcherzykach nasiennych szczurów, u których dokonano hipofizektomii. Tak więc badany związek wywiera bezpośredni

wpływ na dodatkowe gruczoły płciowe z pominięciem układu: przysadka—międzymózgowie.

Sumując powyższe rozważania i konfrontując je z uzyskanymi w doświadczeniu wynikami, przypuszczamy, że Depostat, działając pośrednio i bezpośrednio na pęcherzyki nasienne, powoduje inwolucję nabłonka, nasila transformację pęcherzykową (inaczej — zwiększa proces autofagowy w komórce), a także hamuje proces wydzielniczy tych gruczołów.

PIŚMIENICTWO

1. Dahl E., Hars R.: The Ultrastructure of the Accessory Sex Organs of the Male Rat. Effect of Chlormadinon. *Acta Endocrinol.* **80**, 199, 1975.
2. Hahn J. D., Neumann F.: Untersuchungen zur Wirkung von 19 Nor-17-hydroxy-progesteron-capronat auf Prostata, Samenblasen und Hoden der Ratte. *Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmacol.* **260**, 131, 1968.
3. Kovács J.: Degradation of the Endoplasmatic Reticulum and Formation of Dense Bodies in the Epithelial Cells of the Seminal Vesicle. *Acta biol. Acad. Sci. hung.* **22**, 287, 1971.
4. Kovács J.: Induced Cellular Autophagy in the Epithelial Cells of the Seminal Vesicle of Mice Treated with Actinomycin D. *Acta biol. Acad. Sci. hung.* **23**, 181, 1972.
5. Kovács J., Kovács A.: Membrane Alterations in the Seminal Vesicle Cells of the Mouse during Colling *in vitro*. *Acta biol. Acad. Sci. hung.* **28**, 231, 1977.
6. Kovács A., Kovács J.: Cellular Autophagocytosis in Mouse Seminal Vesicle Cells *in vitro*. *Acta biol. Acad. Sci. hung.* **28**, 415, 1977.
7. Latański M., Obuchowska D.: Ultrastruktura pęcherzyków nasiennych szczura w przewlekłym zatruciu pestycydem Cynkotox. *Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Lublin, Sectio D* **35**, 217, 1980.
8. Loving Ch. K., Flickinger C. J.: Alterations in the Fine Structure of the Prostate and Seminal Vesicle of Rats Treated with Cyproterone Acetate. *Anat. Rec.* **185**, 13, 1976.
9. Obuchowska D.: Ultrastruktura komórek nabłonkowych pęcherzyków nasiennych szczura w warunkach doświadczalnej hipowitaminozy A. *Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Lublin, Sectio D* **26**, 337, 1971.

Otrzymano 22 VI 1982.

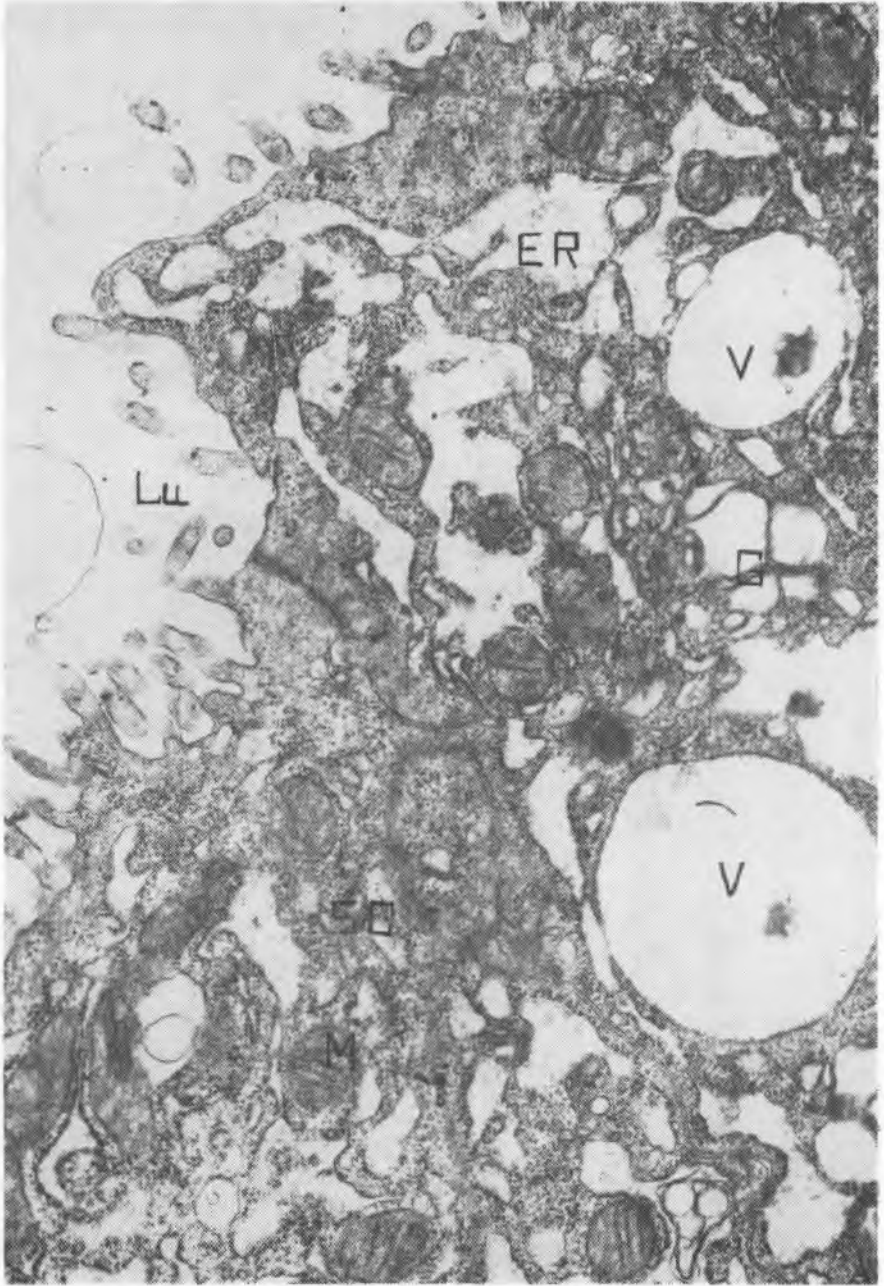
OBJAŚNIENIA RYCIN

Ryc. 1. Grupa doświadczalna I. Komórki wydzielnicze pęcherzyka nasiennego szczura. Pow. ok. 25 000 X.

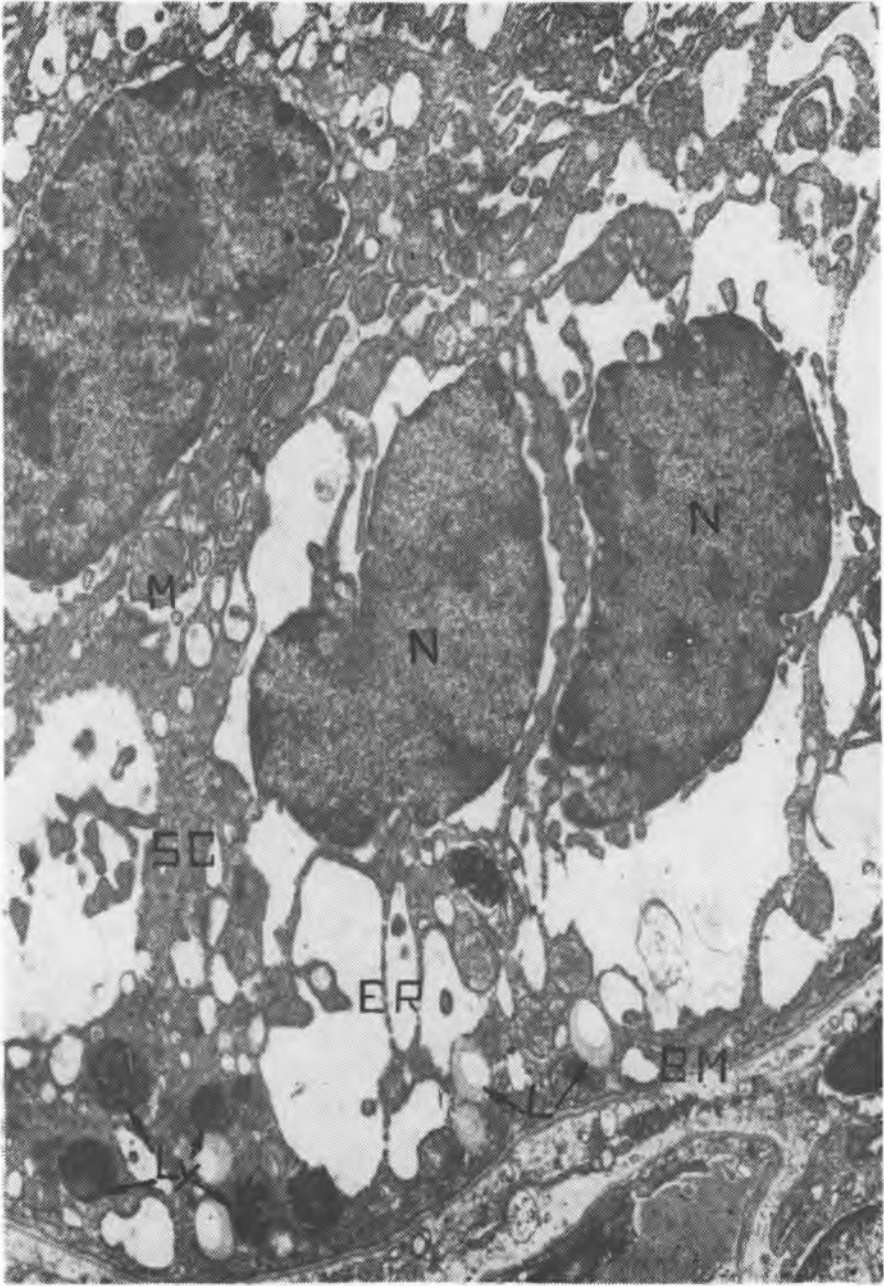
Ryc. 2. Grupa doświadczalna I. Komórki wydzielnicze pęcherzyka nasiennego szczura. Pow. ok. 11 500 X.

Ryc. 3. Grupa doświadczalna II. Komórki wydzielnicze pęcherzyka nasiennego szczura. Pow. ok. 25 000 X.

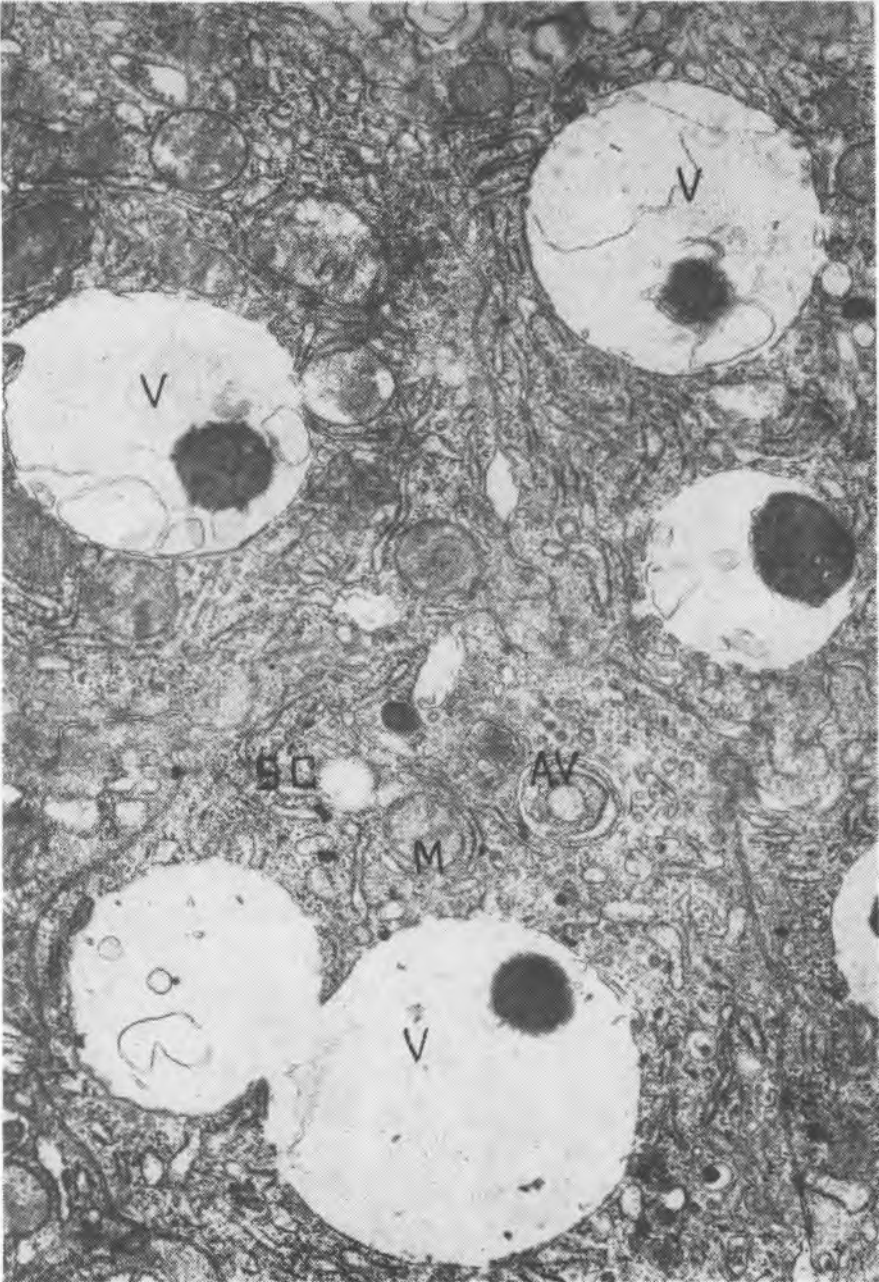
Ryc. 4. Grupa doświadczalna II. Komórka wydzielnicza pęcherzyka nasiennego szczura. Pow. ok. 25 000 X.



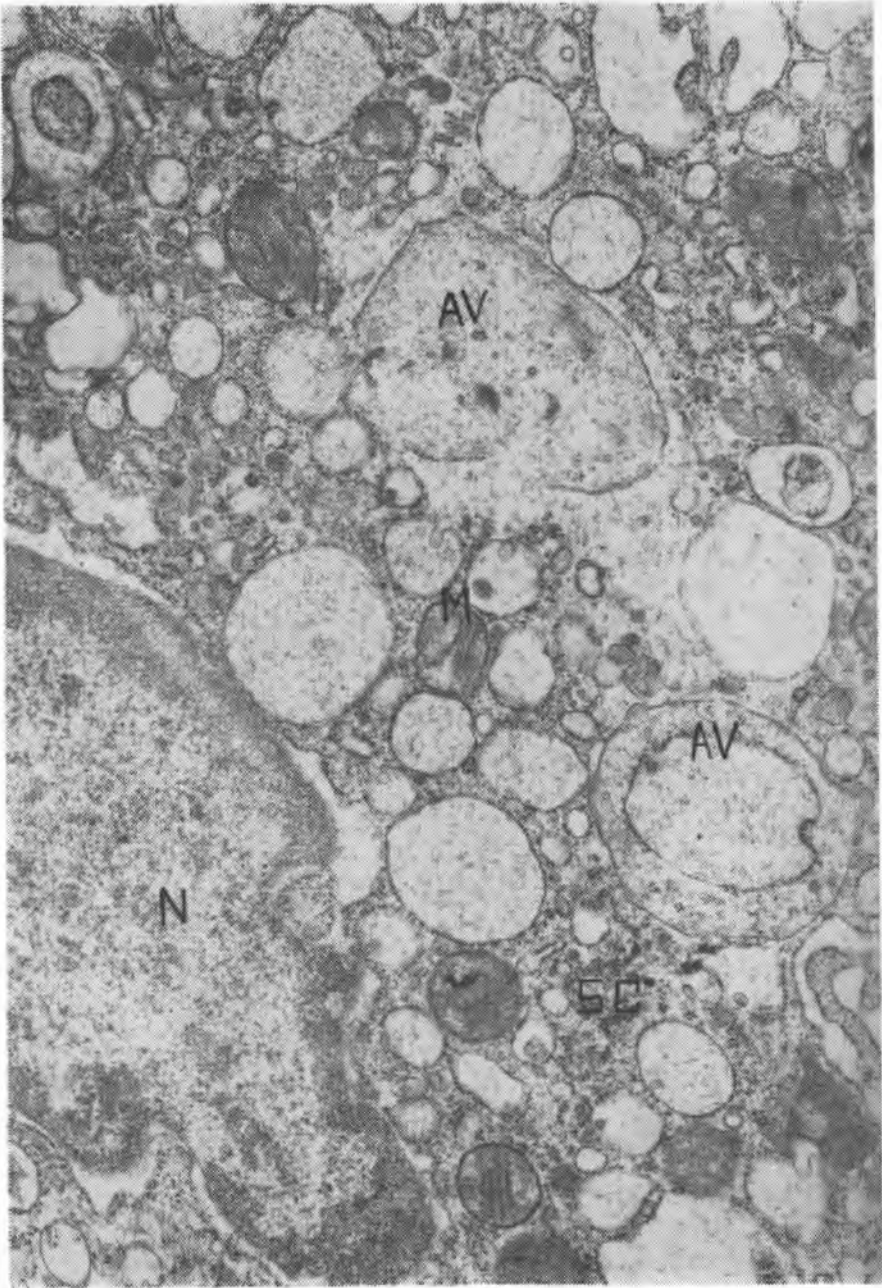
Ryc. 1



Ryc. 2



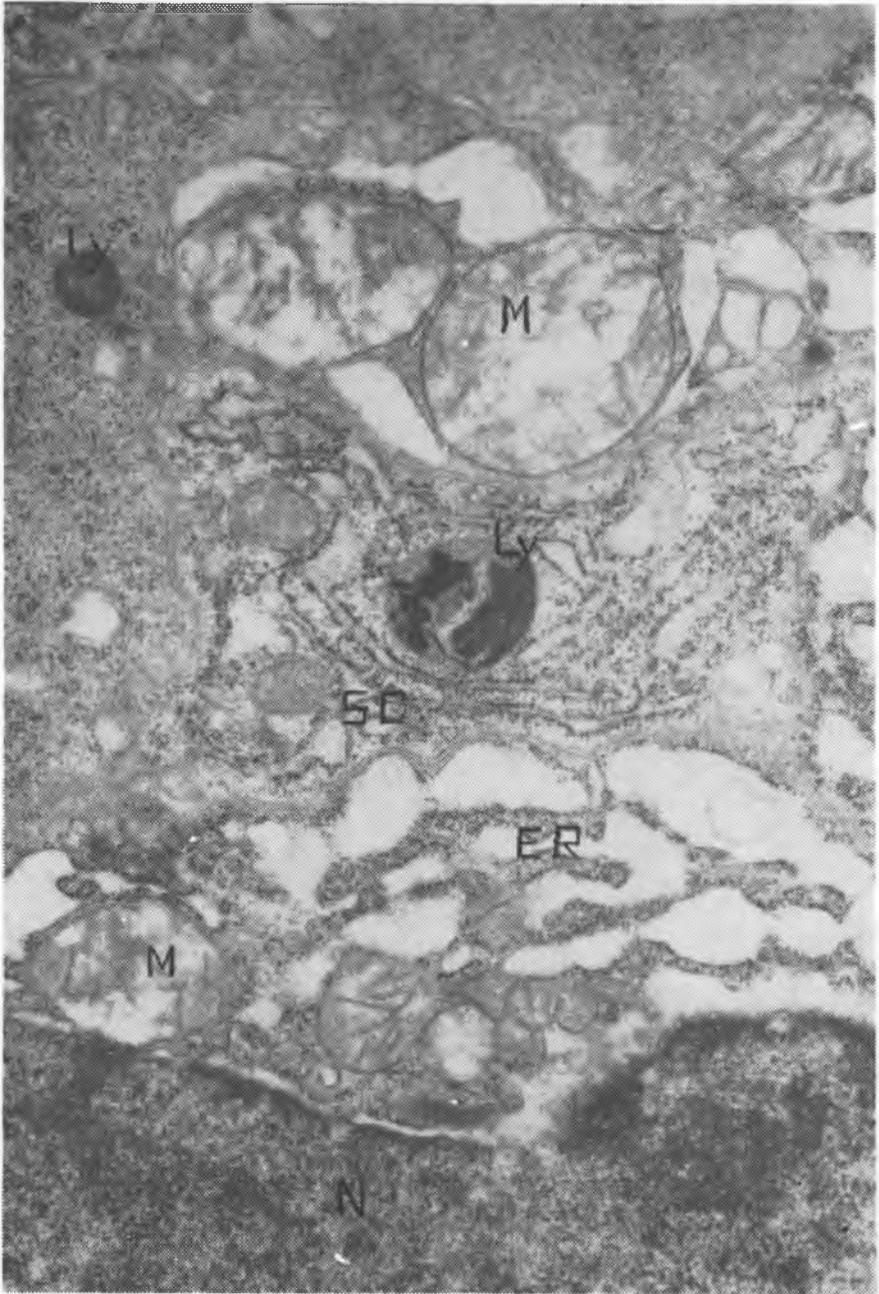
Ryc. 3



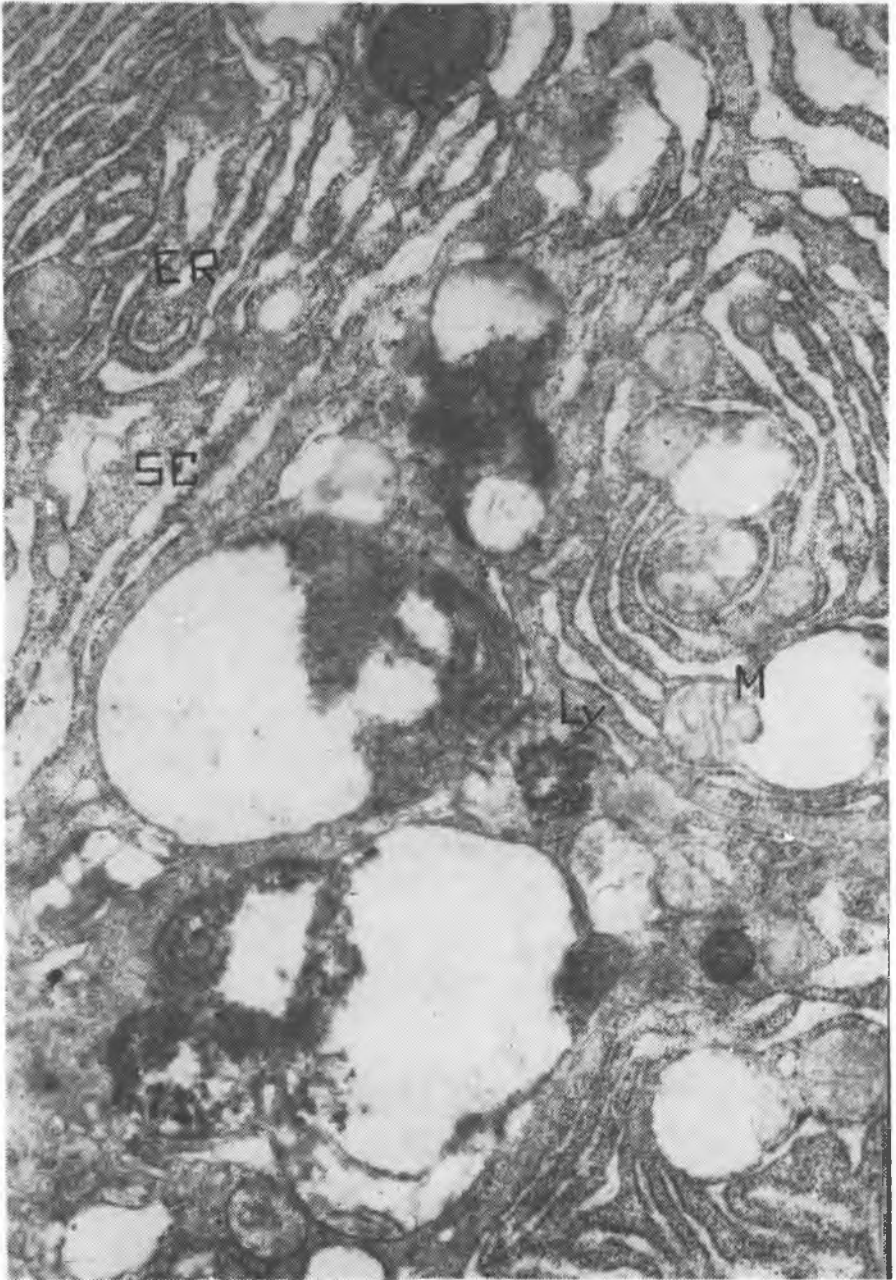
Ryc. 4



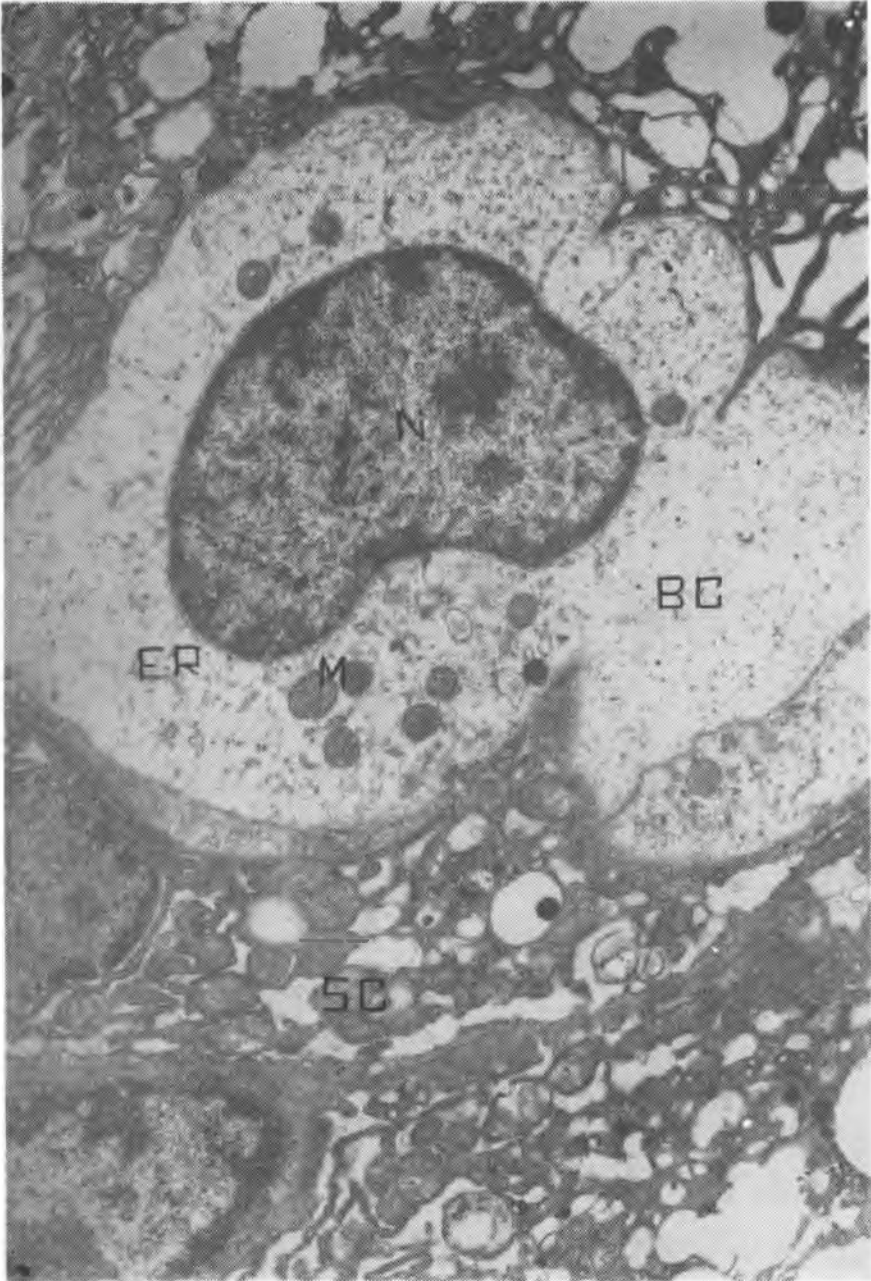
Ryc. 5



Ryc. 6



Ryc. 7



Ryc. 8

Ryc. 5. Grupa doświadczalna II. Komórki wydzielnicza i bazalna pęcherzyka nasiennego szczura. Pow. ok. 25 000X.

Ryc. 6. Grupa doświadczalna III. Komórka wydzielnicza pęcherzyka nasiennego szczura. Pow. ok. 25 000X.

Ryc. 7. Grupa doświadczalna III. Komórka wydzielnicza pęcherzyka nasiennego szczura. Pow. ok. 25 000X.

Ryc. 8. Grupa doświadczalna III. W centrum zdjęcia komórka bazalna pęcherzyka nasiennego szczura. Pow. ok. 11 500X.

OBJAŚNIENIE SKRÓTÓW

AV — autofagowa wakuola	Lu — światło gruczołu
BC — komórka bazalna	Ly — lizosomy
BM — błona podstawowa	M — mitochondria
ER — siatka śródplazmatyczna	N — jądro komórkowe
G — struktury Golgiego	SC — komórka wydzielnicza
L — krople lipidowe	V — pęcherzyki wydzieliny

РЕЗЮМЕ

Исследовали влияние Депостата (гестоноронкапроната) на субмикроскопическую структуру секреторных клеток семенных клеток крыс. Этот препарат имеет антигонадотропное действие через систему: нижний мозговой придаток — промежуточный мозг. В результате исследований установлено инволюцию эпителия, рост аутофагных изменений в клетках и снижение секреторного процесса семенных пузырьков. Эти изменения свидетельствуют о том, что кроме посредственного гормонального воздействия, Депостат оказывает непосредственное влияние на добавочные половые железы.

SUMMARY

The influence of Depostate (gestonoroncapronate) upon the submicroscopic structure of the rat's secretory cells of seminal vesicles has been examined. This preparation reveals antigonadotrophic activity through the hypophysis-intercerebrity structure. The examinations showed the involution of epithelium, intensity of autophagic changes in the cells and the weakening of secretory process of seminal vesicles. The above changes suggest that Depostate, apart from its indirect activity through hormones, also exerts direct influence upon the accessory sexual glands.

EXPLANATION TO FIGURES

Fig. 1. Experimental group I. The secretory cells of the rat's seminal vesicles. Magn. ca 25,000X.

Fig. 2. Experimental group I. The secretory cells of the rat's seminal vesicles. Magn. ca 11,500X.

Fig. 3. Experimental group II. The secretory cells of the rat's seminal vesicles. Magn. ca 25,000X.

Fig. 4. Experimental group II. The secretory cell of the rat's seminal vesicles. Magn. ca 25,000X.

Fig. 5. Experimental group II. The secretory and basal cells of the rat's seminal vesicles. Magn. ca 25,000X.

Fig. 6. Experimental group III. The secretory cell of the rat's seminal vesicles. Magn. ca 25,000X.

Fig. 7. Experimental group III. The secretory cell of the rat's seminal vesicles. Magn. ca 25,000X.

Fig. 8. Experimental group III. In the centre of the figure the basal cell of the rat's seminal vesicles. Magn. ca 11,500X.

EXPLANATION TO SYMBOLS

AV — autophagy vacuole
BC — basal cell
BM — basement membrane
ER — endoplasmic reticulum
G — Golgi complex
L — lipid droplets

Lu — lumen of the gland
Ly — lysosomes
M — mitochondria
N — nucleus
SC — secretory cell
V — secretory vesicles