
I Klinika Ginekologii Operacyjnej. Instytut Położnictwa i Chorób Kobięcych.
Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: doc. dr hab. n. med. Henryk Żrubek
Samodzielna Pracownia Mikroskopii Elektronowej. Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: prof. dr hab. n. med. Maciej Latański

Marian SEMCZUK

Wpływ Kaptanu na obraz mikroskopowo-elektronowy plemnika szczura białego

Влияние Каптана на микроскопическо-электронную картину сперматозоида
белой крысы

The Influence of Kaptan on the Electron Microscopic Picture of a White Rat
Spermatozoon

W poprzednich badaniach własnych prześledzono strukturę submikroskopową prawidłowego plemnika szczura białego (7). Ogólnie znany jest toksyczny wpływ fungicydów na organizm ludzki i zwierzęcy. Wiadomo, że związki te stosowane przez pewien okres prowadzą między innymi do uszkodzenia gonady męskiej. Stwierdzono dotychczas zmiany w obrazie morfologicznym oraz zaburzenia metabolizmu w obrębie komórek jądra szczurów otrzymujących Kaptan. Zaobserwowano również upośledzenie funkcji reprodukcyjnej badanych zwierząt (3, 10). Obecne badania podjęto w celu prześledzenia struktury submikroskopowej plemników zwierząt doświadczalnych traktowanych Kaptanem.

MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Przedmiotem badań było 12 szczurów białych, samców rasy Wistar, w wieku 3 miesięcy i początkowym ciężarze ciała 180—230 g. Na 7 dni przed rozpoczęciem doświadczenia i przez cały czas jego trwania zwierzęta przebywały pojedynczo w klatkach w jednakowych warunkach hodowlanych. Karmione były paszą granulowaną LSM, a do picia podawano im wodę w dowolnych ilościach. Wszystkie zwierzęta przez okres 21 dni otrzymywały dożołądkowo Kaptan w ilości 3 g/kg

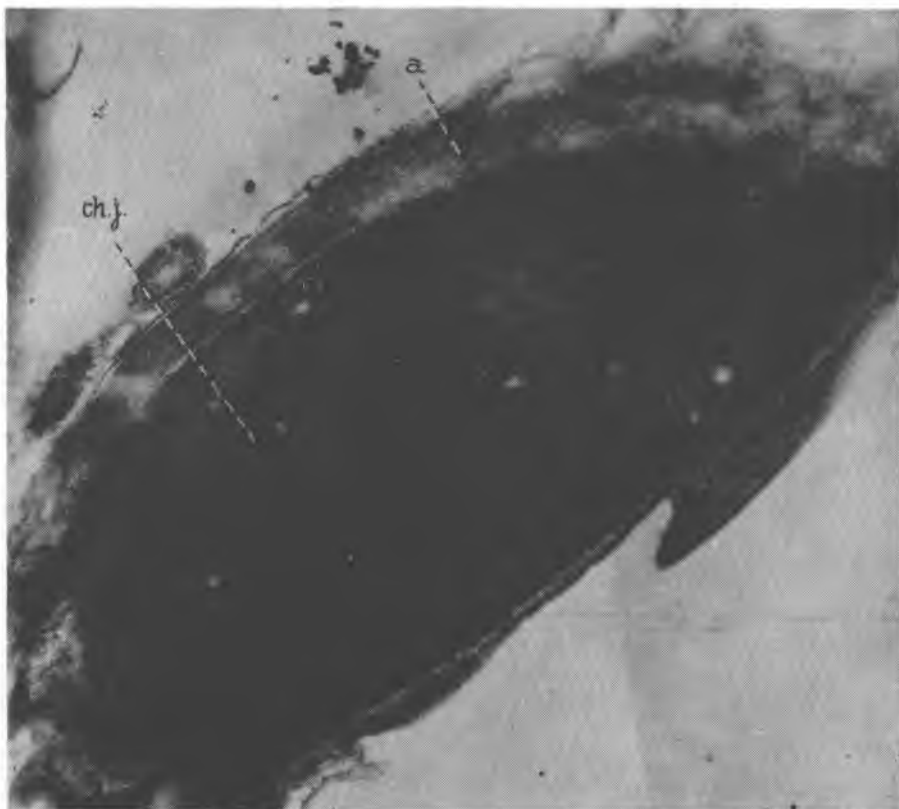
ciężaru ciała na dobę, co stanowiło $1/5 LD_{50}$. W ciągu pierwszych 7 dni zawieszinę Kaptanu w 0,9% chlorku sodu w ilości 2 ml podawano jeden raz dziennie, a przez następnych 14 dni co drugi dzień. W 22 dniu trwania doświadczenia od wszystkich zwierząt pobierano nasienie metodą elektroejakulacji, opisaną przez Scotta i Dziuk (6), w modyfikacji własnej (9) w celu przeprowadzenia obserwacji plemników w mikroskopie elektronowym. Procedurę przygotowywania materiału do badań w mikroskopie elektronowym zamieszczono w jednej z wcześniejszych prac własnych (7).

WYNIKI BADAŃ

Opisu ultrastruktury męskiej komórki rozrodczej szczura białego dokonano uwzględniając jej podział na główkę, szyjkę i witkę. Oddzielnie przeanalizowano substrukturę włókna osiowego. W znacznej większości analizowanych preparatów główki plemników mają kształt prawidłowy (ryc. 1—4). Chromatyna jądrowa jest skondensowana, elektronowo gęsta, homogenna. Zmianę jej kondensacji obserwuje się tylko w pojedynczych przypadkach (ryc. 1, 4). U większości główek plemników obecna jest czapka akrosomu, która ma typową, nie zmienioną strukturę (ryc. 1). Czasami obserwuje się nieznaczne rozdęcie przedniego segmentu akrosomu, przerwanie ciągłości bądź zatarcie jego budowy (ryc. 1, 2, 5, 6). Przestrzeń subakrosomalna jest nie zmieniona, a w przedniej jej części obserwuje się strukturę ciała szczytowego (ryc. 6). Osłonka pozaakrosomalna i koperta jądrowa mają budowę prawidłową. Błona komórkowa otaczająca od zewnątrz strukturę akrosomu jest nie zmieniona i ma zachowaną ciągłość.

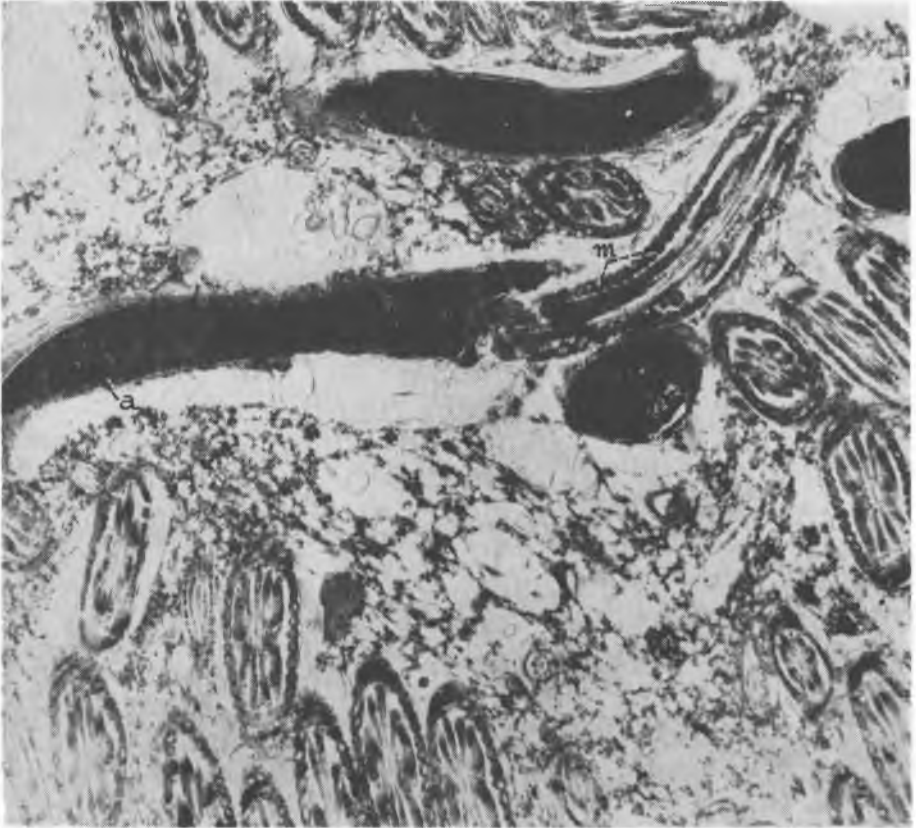
Obszar szyjki we wszystkich preparatach trudno zinterpretować, ponieważ poza płytą podstawową nie dostrzega się wyraźnie poszczególnych jej struktur (ryc. 3—6). Różne przekroje witki plemnika przedstawiają ryc. 2, 3, 5, 7, 8. Obserwuje się względnie regularny układ spirali mitochondrialnej (ryc. 2, 5, 6). Mitochondria tego odcinka mają gęstsze elektronowo błony ograniczające w stosunku do jaśniejszej macierzy. Przejście między odcinkiem środkowym witki a jej dalszą częścią — odcinkiem głównym — jest trudne do interpretacji ze względu na kruchość i łamliwość tego odcinka. Odcinki główny i końcowy witki plemnika mają budowę prawidłową (7).

Na włókno osiowe składają się 2 pojedyncze mikrokanaliki centralne i 9 parzystych mikrokanalików leżących obwodowo (ryc. 8). Od zewnątrz kompleks włókna osiowego otaczają włókna grube w liczbie ok. 8 (ryc. 5—7). Na niektórych mikrofotografiach zaobserwowano miejscami przerwanie ciągłości włókien grubych (ryc. 6). Poza tym struktura włókna osiowego nie odbiega od podanej dla prawidłowego plemnika szczura (7).



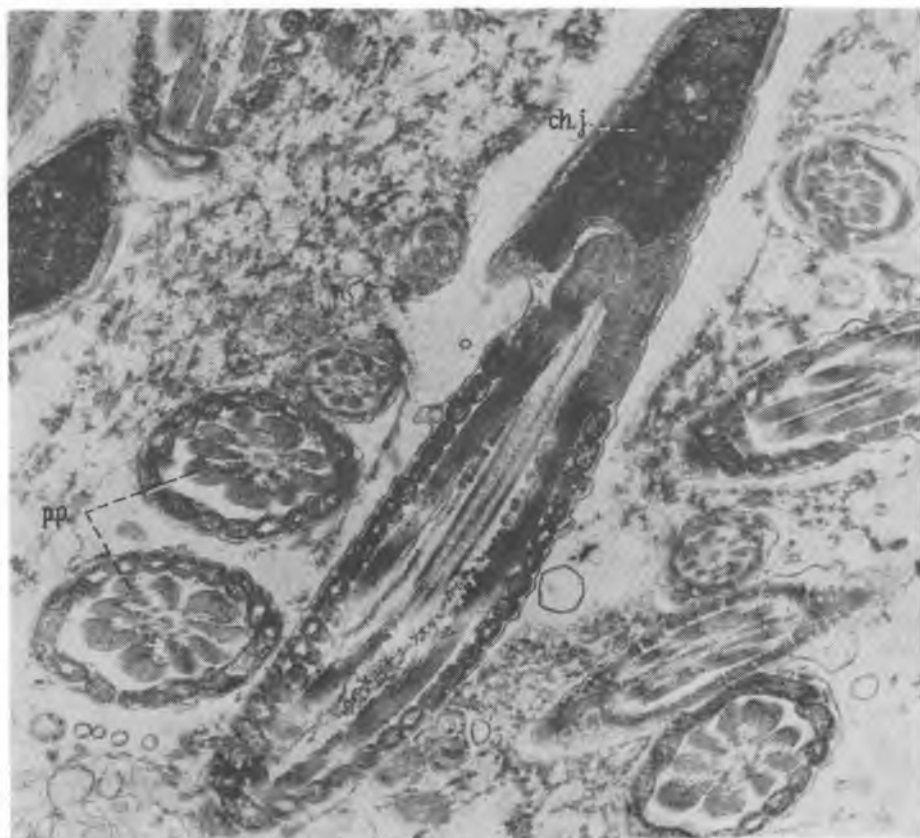
Ryc. 1. Fragment główki plemnika szczura; a. — akrosom (przerwanie struktury),
ch.j. chromatyna jądrowa (zmieniona gęstość). Pow. ok. 90 500×

A fragment of the rat spermatozoon; a. — acrosome (interruption of structure),
ch.j. — nuclear chromatin (changes in condensation). Magn. ca 90,000×



Ryc. 2. Fragment plemnika szczura; a. — akrosom (zatarcie struktury), m. — mitochondria. Pow. ok. 30 000×

A fragment of the rat spermatozoon; a. — acrosome (changes in structure), m. — mitochondria. Magn. ca 30,000×



Ryc. 3. Przekrój plemnika szczura; ch.j. — chromatyna jądrowa, p.p. — przekroje poprzeczne witek. Trudna interpretacja budowy szyjki. Pow. ok. 35 000×
A section of the rat spermatozoon; ch.j. — nuclear chromatin, p.p. — a transverse section of spermatozoon tail. The difficult interpretation of neck in spermatozoon is evident. Magn. ca 35,000×



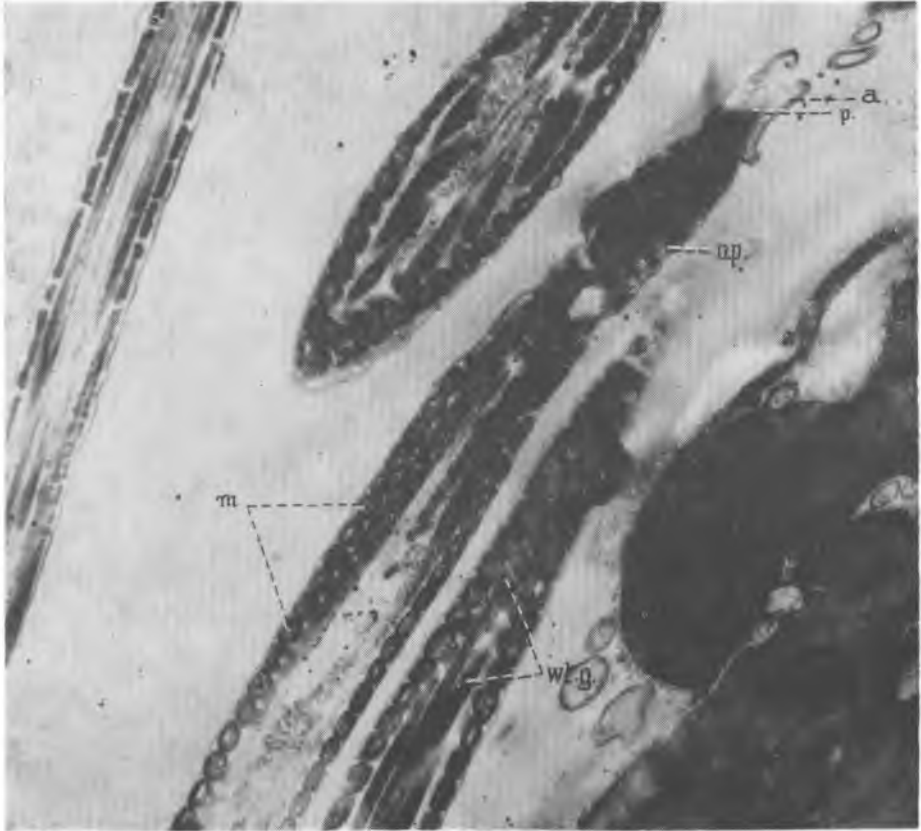
Ryc. 4. Fragment plemnika szczura. Struktura szyjki trudna do interpretacji; ch.j. — chromatyna jądrowa. Pow. 41 700×

A fragment of the rat spermatozoon. The difficult interpretation of neck in spermatozoon is evident. ch.j. — nuclear chromatin. Magn. ca 41,700×

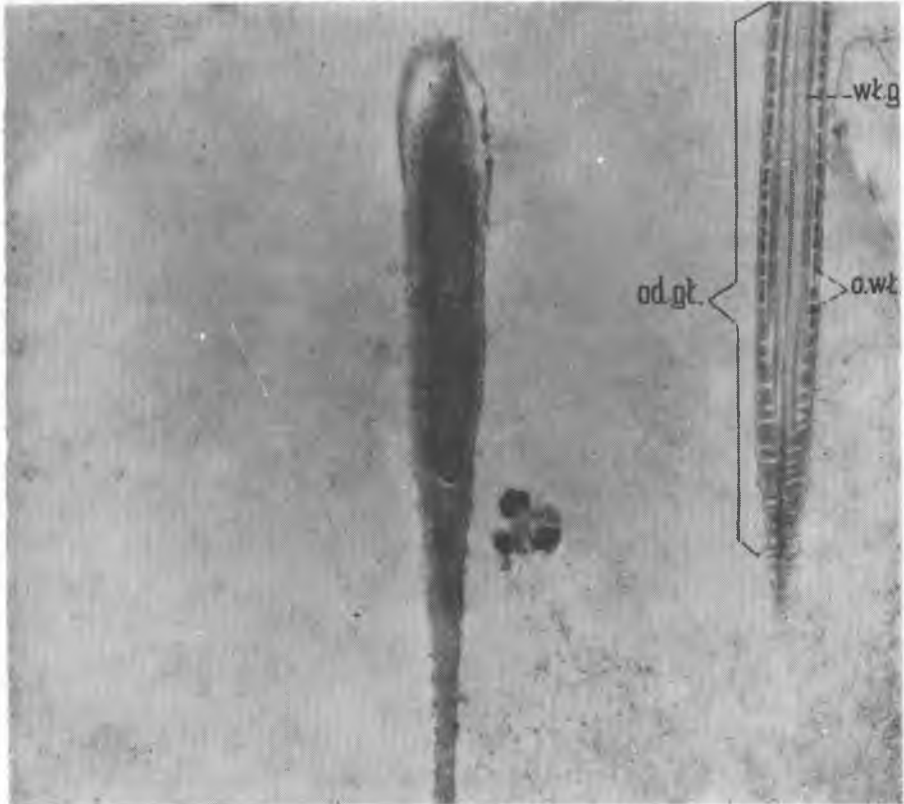


Ryc. 5. Plemnik szczura; a. — akrosom (zatarcie struktury, m. — mitochondria, pł.p. — płyta podstawowa, wł.g. — włókna grube witki. Niewidoczna budowa szyjki.
Pow. ok. 58 500 ×

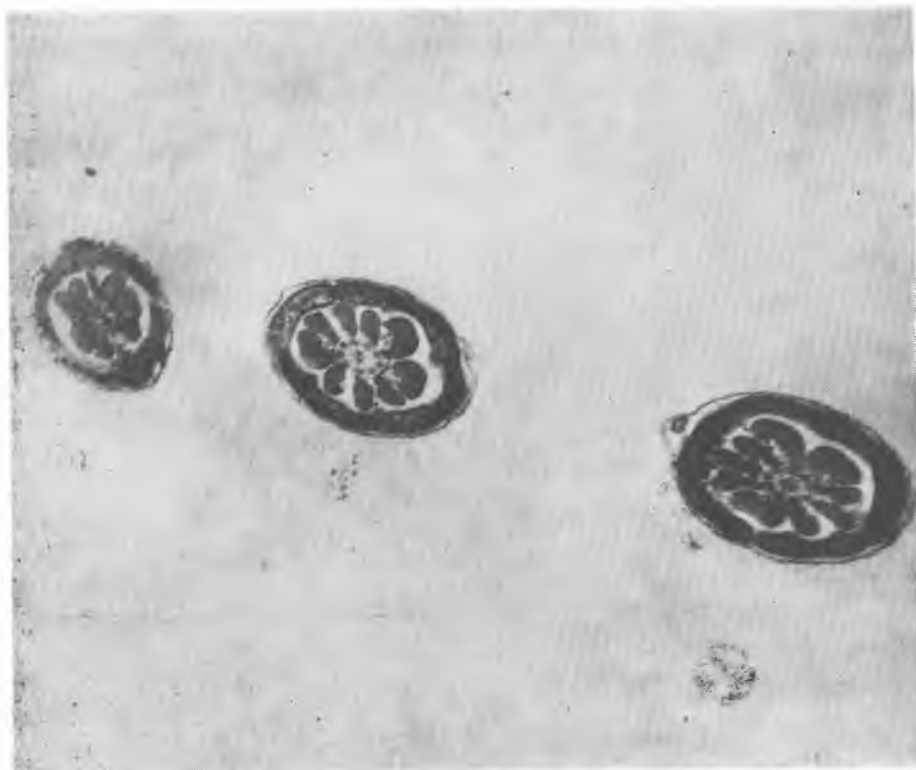
The rat spermatozoon; a. — acrosome (changes in structure), m. — mitochondria, pł.p. — basal plate, wł.g. — thick tail fibres. The structure of neck is unseen.
Magn. ca 58,500 ×



Ryc. 6. Przekrój plemnika szczura; a. — akrosom (przerwanie struktury), m. — mitochondria, o.p. — osłonka pozajądrowa, p. — ciało szczytowe, wł.g. — włókna grube witki (przerwane). Zatarcie budowy szyjki. Pow. ok. 66 800×
A section of the rat spermatozoon; a. — acrosome, (interruption structure of acrosome), m. — mitochondria, o.p. — post-nuclear sheath, p. — apical body, wł.g. — thick tail fibres (interrupted). Changes in structure of neck. Magn. ca 66,800×



Ryc. 7. Witka plemnika szczura; o.wł. — osłonka włóknista, od.gł. — odcinek główny, wł.g. — włókna grube. Pow. ok. 35 000×
A tail of the rat spermatozoon; o.wł. — fibrous sheath, od.gł. — basal piece of tail, wł.g. — thick tail fibres. Magn. ca 35,000×



Ryc. 8. Przekrój poprzeczny witki plemnika. Pow. ok. 60 000×
A transverse section of the spermatozoon tail. Magn. ca 60,000×

OMÓWIENIE WYNIKÓW

W obecnych badaniach zanotowałem stosunkowo niewielkie zmiany w budowie submikroskopowej plemników zwierząt doświadczalnych, które otrzymywały Kaptan przez okres 3 tygodni. Zmiany powyższe sprowadzały się jedynie w części przypadków do zmienionej kondensacji chromatyny jądrowej, rozděcia przedniego segmentu akrosomu i zatarcia jego budowy oraz braku ciągłości włókien grubych witki.

Poprzednie badania doświadczalne pozwoliły sądzić, że Kaptan stosowany przez okres 3 tygodni prowadzi do odwracalnych zmian w obrazie morfologicznym gonady (10) oraz zaburzeń metabolizmu w obrębie jej komórek (3). Zmiany powyższe miały charakter niespecyficzny. Zaobserwowano również zniesienie funkcji reprodukcyjnej zwierząt tuż po zaprzestaniu podawania Kaptanu (10), co również miało charakter ustępujący.

Zmienioną kondensację chromatyny jądrowej opisywali w plemnikach zwierząt nieplodnych inni autorzy (1, 11). Może ona powstać również w wyniku działania substancji chemicznych, jak np. wodorotlenku sodu (4), alkoholu etylowego (8). Z pewnym prawdopodobieństwem można przyjąć, że alkohol etylowy, przedostając się do gonady powoduje zmianę kondensacji chromatyny jądrowej w okresie dojrzewania plemników. Dekondensacja chromatyny jądrowej plemników uważana jest za jeden z czynników obniżających wartość biologiczną nasienia (1).

Ross i wsp. (5) opisali zwyrodnienie i nieprawidłowy kształt akrosomu, a Fujita i wsp. (2) — pogrubienie jego błon granicznych oraz wgłobienie przedniego segmentu. Pedersen (4) uważa, że obserwowane nieprawidłowości w obrębie akrosomu częściowo są wynikiem stosowanej metody przygotowywania materiału do badań. Jednak zanotowanych w obecnych badaniach własnych nawet niewielkich zmian w obrębie akrosomu chyba nie można uważać za artefakty, ponieważ nie obserwowano ich nigdy w prawidłowych plemnikach ludzkich (8) i zwierzęcych (7). Stwierdzone obecnie niewielkie zmiany w obrazie mikroskopowym plemnika szczura, jak się wydaje, częściowo nie są zgodne z wynikami wcześniejszych badań doświadczalnych (3, 10). Być może, trzytygodniowy okres stosowania fungicydów jest zbyt krótki, by mogły się ujawnić wyraźniejsze zmiany substrukturalne plemników, a zahamowanie płodności obserwowanych zwierząt może być wynikiem nie tylko mniejszej wartości komórek rozrodczych, a także mniejszej wartości nasienia tych zwierząt w sensie zmian ilościowych. Problem ten wymaga dalszych badań. Powyższą sugestię potwierdzają wyniki badań, ponieważ w obrębie gonady zwierząt otrzymujących Kaptan stwierdzono zahamowanie spermatogenezy oraz zredukowanie wysokości nabłonka plemnikotwórczego (10). We wcześniejszych badaniach nad wpływem intoksykacji alkoholowej na

obraz submikroskopowy plemnika szczura wyraźne zmiany zaobserwowano dopiero po 51 dniach podawania zwierzętom alkoholu etylowego. Wobec tego interesujące mogą okazać się badania doświadczalne nad ultrastrukturą plemników zwierząt po dłuższym traktowaniu ich Kaptanem.

PISMIENNICTWO

1. Cosker M.: *J. Reprod. Fert.* **18**, 363—365, 1969.
2. Fujita T., Miyoshi M., Tokunaga J.: *Z. Zellforsch.* **105**, 483—497, 1970.
3. Kutulas J., Semczuk M., Żrubek H., Czarkowska D.: Zachowanie się niektórych odczynów histochemicznych w tkankach jądra szczura białego w następstwie działania Kaptanu. *Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Lublin, sectio D*, **33**, 53—60, 1978.
4. Pedersen H.: *Danish Med. Bull.* **21**, 1—36, 1974.
5. Ross A., Christie S., Edmont P.: *J. Reprod. Fert.* **32**, 243—251, 1973.
6. Scott J. V., Dziuk P. D.: *Anat. Rec.* **133**, 655—658, 1959.
7. Semczuk M.: Obraz mikroskopowo-elektronowy prawidłowego plemnika szczura białego. *Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Lublin, sectio D*, **33**, 41—46, 1978.
8. Semczuk M.: Badania kliniczne i doświadczalne nad wpływem alkoholu etylowego na obraz morfologiczny i czynność plemnikotwórczą gonady męskiej. Lublin 1975 (rozprawa habilitacyjna).
9. Semczuk M., Żrubek H., Głazowski T.: Some Aspects of Obtaining Rat Semen by Electroejaculation Method. *Acta Physiol. Polonica* **28**, 365—368, 1977.
10. Semczuk M., Żrubek H., Kutulas J., Czarkowska D.: Wpływ Kaptanu na stan morfologiczny i czynnościowy jądra szczura białego. *Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Lublin, sectio D*, **33**, 89—96, 1978.
11. Zibrin M., Tomajkova E.: *Z. mikrosk.-anat. Forsch. Leipzig*, **88**, 511—522, 1974.

Otrzymano 5 IV 1977.

РЕЗЮМЕ

Опыты провели на 12 белых крысах-самках расы Вистар 3 месячного возраста и начальным весом 180—230 г. Животные получали внутрижелудочно Каптан в дозе 3 г/кг массы тела в течении 7 дней ежедневно, а в течении следующих 14 дней — через день. Сперму брали методом электроэякуляции, который описали Скотт и Дзюк и с собственными изменениями автора. Проведено субмикроскопную оценку спермы крысы, учитывая раздел мужской генеративной клетки на головку, шейку и жгутик.

Отдельно проанализировали субструктуру осевоцилиндрического отростка. Обнаружено небольшие субмикроскопные изменения в виде частично измененной конденсации ядерной хроматины, отдельные случаи эктазии переднего сегмента акросома и затухание его структуры, а также выступление прерывистости толстых волокон жгутика.

SUMMARY

The investigations were carried out on 12 male white Wistar rats aging 3 months, their initial body weight ranged 180—220 g. They were given Kaptan every day in dose of 3 g/kg during 7 days and subsequently every second day. The semen was obtained by means of electroejaculation after the modified method of Scott and Dziuk. The submicroscopic evaluation of rat spermatozoa was made with compliance to the division of male reproductive cell into head, neck and tail. The substructure of axial fibre was separately analysed.

Discreet submicroscopic changes in the form of partially changed nuclear chromatin condensation were ascertained. In some cases the distension of the anterior acrosome segment together with a blurring of its structure and discontinuity of vast fibres in the tail was observed.

