

Katedra i Zakład Histologii i Embriologii. Pracownia Mikroskopii Elektronowej. Wydział Lekarski
Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: prof. dr med. Stanisław Grzycki

Daniela OBUCHOWSKA

Ultrastruktura komórek nabłonkowych pęcherzyków nasiennych szczura w warunkach doświadczalnej hipowitaminozy A.

Ультраструктура эпителийных клеток семенных пузырьков крысы в условиях экспериментального гиповитаминоза А

Ultrastructure of the Epithelial Cells of the Seminal Vesicles of Rat in Experimental Hypovitaminosis A

/

Wpływ niedoboru witaminy A na budowę i czynność gonad żeńskich i męskich został dobrze poznany zarówno u ludzi (2), jak i w warunkach doświadczalnych u zwierząt (2,6). Niedobór tej witaminy powoduje uszkodzenie pęcherzyków Graafa i niedostateczne funkcjonowanie ciała żółtego w jajnikach (2), oraz zmniejszenie, a nawet zanik gonad męskich, (6). Mason (6) wyraża pogląd, że obserwowane zmiany w gonadach dowodzą wysokiej organizacji i dużej aktywności metabolicznej nabłonka płciowego, który wcześniej niż inne rodzaje nabłonków ulega uszkodzeniu przy niedostatecznym poziomie witaminy A w organizmie. Z nowszych badań należy wymienić pracę Pawłowskiej (8), która wykazała, że po dwóch miesiącach karmienia zwierząt syntetyczną dietą pozbawioną witaminy A w gruczołach macicy szczura wystąpiły zmiany w niektórych komórkach nabłonkowych przemawiające za zwiększoną produkcją wydzieliny, po trzech miesiącach natomiast obserwowano zahamowanie procesu wydzielniczego we wszystkich komórkach, a także ich atrofie.

Nie jest dotychczas dostatecznie wyjaśniony wpływ niedoboru witaminy A na dodatkowe gruczoły płciowe: pęcherzyki nasienne, gruczoł krokowy i gruczoły opuszkowo-cewkowe. Mason (6) badał przy użyciu mikroskopu świetlnego gruczoły dodatkowe płciowe u hipowitaminowanych A szczurów i zwrócił uwagę na zanik gruczołów spowodowany prawdopodobnie ogólnym zahamowaniem wzrostu.

Nasze badania obejmują wczesne zmiany ultrastrukturalne komórek nabłonkowych pęcherzyków nasiennych szczura w warunkach sztucznie wywołanej hipowitaminozy A.

MATERIAŁ I METODA

Badania przeprowadzono na 12 szczurach białych (*Rattus rattus* L. *albino*), samcach, hodowli własnej. Ciężar ciała zwierząt przed doświadczeniem wynosił 50–60 g. Zwierzęta podzielono na trzy grupy (po cztery w każdej grupie): dwie doświadczalne i jedną kontrolną. Ze względu na trud-

ność w wywoływaniu niedoboru witaminy A u zwierząt dorosłych do doświadczenia użyto szczury młode, jednomiesięczne, które po oddzieleniu od matki otrzymywały syntetyczną dietę pozbawioną witaminy A (wg Moore, 7). Zwierzęta stanowiące grupę doświadczalną I otrzymywały dietę przez okres dwóch miesięcy, a grupy doświadczalnej II przez okres trzech miesięcy. Średnia zawartość procentowa witaminy A w j. m./g wątroby wg badań Pawłowskiej (8) u zwierząt doświadczalnych wynosiła po dwóch miesiącach — 23%, a po trzech miesiącach — 12%. Materiałem kontrolnym były wycinki pęcherzyków nasiennych trzy i pół miesięcznych szczurów ze względu na brak różnic w budowie komórek nabłonkowych pęcherzyków nasiennych zwierząt trzy i czteromiesięcznych.

Pobrane w narkozie eterowej wycinki z części obwodowej lewego pęcherzyka nasiennego utrwalano w 6% roztworze aldehydu glutarowego zbuforowanego do pH 7,2 buforem kakodylowym przez dwie godziny w temperaturze 0—4°C. Po przepłukaniu w zimnym buforze wycinki dotrwalano w takich samych warunkach, ale przy użyciu utrwalcza z 1% roztworem OsO₄. Po utrwaleniu materiał przeprowadzano przez szereg alkoholi etylowych o wzrastającym stężeniu i przez tlenek propylenu, a następnie zatapiano w Eponie 812. Błoczki polimeryzowano w termostacie w temperaturze 60°C przez trzy doby. Skrawki krojono na ultramikrotomie Tesla BS 490 (CSSR), podbarwiano octanem uranylu i plynem Reynolds'a. Oglądano i fotografowano w mikroskopie elektronowym Tesl BS 613 (CSSR).

BADANIA WŁASNE

Grupa kontrolna. Nabłonek wyścielający pęcherzyki nasienne szczura utworzony był z dwóch typów komórek: cylindrycznych (wydzielniczych, SC) i podstawowych (BC). Pierwsze spoczywały bezpośrednio na błonie podstawowej (BM) lub dotykały szczytów komórek podstawowych (ryc. 1), zaś drugie opierały się na błonie podstawowej wklonowując się pomiędzy komórki cylindryczne (ryc. 5).

Błona zewnętrzna (CM) komórek cylindrycznych u podstawy miała przebieg prosty, a w częściach bocznych tworzyła głębokie pofałdowania (ryc. 1). W pobliżu światła gruczołu (L) występowały desmosomy (D) (ryc. 2). Wolna powierzchnia komórek zwrócona w stronę światła gruczołu posiadała mikrokosmki (Mv) (ryc. 2). Jądro komórkowe (N) — okrągłe lub owalne — otoczone podwójną błoną wypełniał luźny zrąb chromatyny gęstniejący na obwodzie w charakterystyczne chromocentra (ryc. 3). Układy błon szorstkich (ER) były dobrze rozwinięte w strefie okołojądrowej i u podstawy komórek (ryc. 3). W strefie nadjądrowej ergastoplazmy było mało, zwykle jako krótkie, zamknięte odcinki błon szorstkich (ryc. 2). Przekroje gładkiego retikulum (Re) spostrzegano w części nadjądrowej i szczytowej komórek (ryc. 2). Większość rybosomów głównie przy podstawie komórki była związana z błonami ergastoplazmy, w cytoplazmie było niewiele rybosomów wolno leżących (R) (ryc. 3), zaś w przywierzchołkowej strefie przeważały rybosomy nie związane z błonami ziarnistymi (ryc. 2). Struktury Golgiego (G) obserwowano w okolicy nadjądrowej w sąsiedztwie pęcherzyków wydzieliny (V) (ryc. 4). Pęcherzyki wydzieliny tworzyły małe i duże skupienia lub występowały pojedynczo (ryc. 2, 4). Każdy pęcherzyk wydzieliny otoczony pojedynczą błoną utworzony był z dwóch rodzajów substancji różniących się gęstością elektronową, zewnętrznej jasnej i wewnętrznej elektronowo gęstej (ryc. 2, 4).

Mitochondria (M) miały na przekrojach kształt okrągły lub owalny (ryc. 2, 4). Część z nich posiadała nieliczne grzebienie mitochondrialne, w innych były one niewidoczne. Substancja rdzenna wykazywała umiarkowaną gęstość elektronową. Więcej mitochondriów obserwowano w części nadjądrowej i szczytowej komórek cylindrycznych niż przy ich podstawie (ryc. 2, 4).

Komórki podstawowe (BC) nie tworzyły ciągłej warstwy, lecz występowały pojedynczo lub w skupieniach. Kształty tych komórek były różne, w większości owalne. Okrągłe lub owalne jądra, otoczone podwójną błoną zajmowały część środkową komórki. Cytoplazma posiadała ziarnistą strukturę. Znajdowały się w niej nieliczne, słabo wykształcone układy błon szorstkich (ER), przekroje błon gładkich (Re), wolno leżące rybosomy (R) oraz niewielka ilość mitochondriów (M) (ryc. 5). W niektórych mitochondriach widoczne były grzebienie mitochondrialne, w innych nie spostrzegano ich.

Grupa doświadczalna I. Po dwóch miesiącach stosowania diety bez witaminy A w ultrastrukturze komórek cylindrycznych (SC) dały się już zauważyć wyraźne zmiany. W strefie okołojądrowej i przy podstawie komórki obserwowano poszerzenie kanałów ergastoplazmy (ER), które wypełnione były elektronowo jasną substancją o ziarnistej strukturze (ryc. 6, 7). W cytoplazmie spostrzegano wolno leżące rybosomy (R) (ryc. 7). Obok nielicznych mitochondriów (M) o prawidłowej budowie, występowały również o strukturze zaburzonej charakteryzującej się zmianami w układzie lub częściowym zaniku grzebieni, przejaśnieniami substancji rdzennej i znacznym obrzmieniem. Większość zmienionych mitochondriów posiadała w macierzy duże, elektronowo puste przestrzenie (ryc. 6, 7). W części szczytowej komórek widoczne były duże ilości drobnych ziaren wydzieliny (V) (ryc. 8). W sąsiedztwie struktur Golgiego (G) znajdowały się pojedyncze, duże, elektronowo gęste ziarna sekrecji. Ziarna te nie posiadały błony zewnętrznej. Wolna powierzchnia komórki granicząca ze światłem gruczołu pokryta była mikrokosmkami (ryc. 8). W jądrze zmian nie obserwowano.

W komórkach podstawowych zauważono poszerzenie kanałów ergastoplazmy (ryc. 9). Wokół jądra komórkowego widoczna była nieregularna przestrzeń wypełniona ziarnistym materiałem o średniej gęstości elektronowej, taki sam materiał wypełniał poszerzone kanały ergastoplazmy. Mitochondria były niezmienione, a w ich macierzy występowały pojedyncze grzebienie mitochondrialne (ryc. 9). Cytoplazma zawierała przekroje błon gładkich (Re) oraz wolno leżące rybosomy (ryc. 9). Jądra komórkowe nie wykazywały zmian.

Grupa doświadczalna II. Po trzech miesiącach podawania diety bez witaminy A stwierdzono, podobnie jak w grupie poprzedniej, poszerzenie kanałów ergastoplazmy i przestrzeni okołojądrowej w komórkach cylindrycznych (ryc. 10). Większość mitochondriów wykazywała zmiany o charakterze postępującym w porównaniu z grupą I. Obserwowano znaczne obrzmienie tych organelli, bardziej rozległe przejaśnienia w obrębie macierzy oraz krótkie, nieliczne grzebienie mitochondrialne (ryc. 10). W części szczytowej komórek cylindrycznych widoczne były pęcherzyki

sekrecji (V) o typowym wyglądzie (ryc. 11.) Było ich niewiele, znacznie mniej niż w grupie doświadczalnej I i w grupie kontrolnej. Wolna powierzchnia komórek była na dużej przestrzeni gładka, mikrokosmki występowały w małej liczbie, były krótkie, krótsze niż w poprzednio opisanych grupach (ryc. 11). Rybosomy były albo wolne, albo związane z błonami szorstkimi, których było mniej niż w komórkach kontrolnych i po dwóch miesiącach hipowitaminozy A. W świetle gruczołu (L) widoczne były znikome ilości wydzieliny (ryc. 11). Jądro komórkowe zmian nie wykazywało.

Komórki podstawowe (BC) zasadniczo nie różniły się od występujących w grupie doświadczalnej I (ryc. 12), zauważało się jednak także komórki podstawowe różniące się ultrastrukturalnie. W komórkach tych obserwowano dużą liczbę krótkich, miejscami poszerzonych odcinków błon szorstkich, większą niż w pozostałych komórkach podstawowych liczbę mitochondriów i przekrojów błon gładkich (ryc. 13). W obrazie submikroskopowym jądra komórkowego i mitochondriów zmian nie spostrzegano. W cytoplazmie występowały nieliczne, wolno leżące rybosomy oraz rybosomy związane z błonami (ryc. 13).

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Doświadczalna hipowitaminoza A powodowała zmiany w budowie submikroskopowej cytoplazmy komórek cylindrycznych i podstawowych nabłonka wydzielniczego pęcherzyków nasiennych szczura. W ultrastrukturze jądra komórkowego wyraźnych zmian nie dostrzegano. Charakterystyczne dla obu typów komórek i najwcześniej dające się zauważyć różnice między materiałem kontrolnym i doświadczalnym sprowadzały się do poszerzenia kanałów ergastoplazmy oraz przestrzeni okołojądrowej, w komórkach cylindrycznych również do zaburzenia struktury mitochondriów. W grupach doświadczalnych mitochondria wykazywały obrzmienie i przejaśnienia w obrębie substancji rdzennej. Zmiany te nasilały się w miarę trwania naszego eksperymentu. Obrzmienie tych organelli wiąże się niewątpliwie z większym niż w warunkach prawidłowych przenikaniem płynów wewnątrzkomórkowych do ich wnętrza, co wydaje się mieć związek z przepuszczalnością błon mitochondrialnych. Badania Vaughana i wsp. (10) nad wpływem witaminy A na lipidy mitochondrialne wątroby szczura pozwoliły na wysunięcie wniosku, że jest ona odpowiedzialna za stabilizację połączenia białko-tłuszcz w całym systemie błon wewnątrzkomórkowych. Postępujący spadek poziomu witaminy A w naszym doświadczeniu mógł zatem wpłynąć na zmianę przepuszczalności nie tylko błon mitochondrialnych, lecz także błon szorstkich, co uwidoczniło się poszerzeniem kanałów ergastoplazmy i przestrzeni okołojądrowej. Hohlweg (3) prowadząc badania nad wpływem niedoboru witaminy A na różne rodzaje nabłonków wykazał, że nabłonki gruczołowe nie posiadające warstwy rozrodczej reagują na niedobór tej witaminy najpierw przejściową hipersekrecją, a przy dalej posuniętej hipowitaminozie A atro-

fią gruczołów. Znalazło to również potwierdzenie w pracy Pawłowskiej (8) nad wpływem niedoboru witaminy A na nabłonek gruczołowy macicy szczura.

W naszych badaniach przejściowej hipersekrecji nie obserwowano. Po trzech miesiącach podawania diety bez witaminy A w naszych doświadczeniach dochodziło do zmniejszenia procesu wydzielniczego. Świadczyły o tym: znikoma ilość wydzieliny w komórce i w świetle gruczołu, nieliczne i krótkie mikrokosmki, mała liczba błon szorstkich i słabo zaznaczone struktury Golgiego.

Pozostaje nie wyjaśnione zagadnienie roli komórek podstawowych występujących w nabłonku pęcherzyków nasiennych. Komórki te nie tworzyły ciąglej warstwy, lecz układały się pojedynczo lub w skupieniach po kilka na błonie podstawowej nabłonka. Według Deane i wsp. (1) stanowiły one materiał zapasowy dla zużywających się komórek cylindrycznych. Podobne przypuszczenia wysunął Latański (4), który obserwował po prostatektomii w nabłonku pęcherzyków nasiennych szczura komórki „jasne”. Komórki te nie posiadały jeszcze wyglądu typowej komórki cylindrycznej, lecz zawierały ziarna wydzieliny i — jak sądzi autor — mogły powstać na drodze przebudowy komórek podstawowych. W naszym eksperymencie po trzech miesiącach stosowania diety bez witaminy A wśród komórek podstawowych spostrzegano komórki z dużą liczbą krótkich odcinków błon szorstkich i licznymi mitochondriami o prawidłowo wykształconych grzebieniach mitochondrialnych. Komórki te nie posiadały pęcherzyków wydzieliny. Można by przypuszczać, że powstały one z komórek podstawowych na skutek ich różnicowania się. Ze względu na krótki czas trwania doświadczenia nie jesteśmy w stanie określić, czy różnicowanie się komórek podstawowych mogłoby doprowadzić do powstania komórek cylindrycznych i czy ten proces mógłby zapobiec dalszemu zmniejszaniu się produkcji wydzieliny w gruczołach pęcherzyków nasiennych. Wydaje się to mało prawdopodobne, gdyż prawidłowe funkcjonowanie tych gruczołów uwarunkowane jest obecnością testosteronu we krwi (5, 9). Szirmai (9) stwierdził brak wydzieliny w pęcherzykach nasiennych szczurów, którym usunięto gonady. Niedobór witaminy A wywołując zmiany degeneracyjne w męskich gruczołach płciowych powoduje uszkodzenie komórek Leydiga (2). W świetle tych danych można by przypuszczać, że obserwowane przez nas zmniejszenie sekrecji w komórkach cylindrycznych pęcherzyków nasiennych w warunkach hipowitaminozy A mogło być spowodowane bezpośrednio zaburzeniem produkcji testosteronu z powodu uszkodzenia komórek Leydiga.

Wnioski

1. Niedobór witaminy A powoduje poszerzenie kanałów ergastoplazmy i przeszerzeni okołojądrowej w komórkach cylindrycznych i podstawowych nabłonka wydzielniczego pęcherzyków nasiennych.

2. W komórkach cylindrycznych stwierdza się uszkodzenie struktury mitochondriów, zmniejszenie liczby mikrososmków i ziaren sekrecji.

3. Obserwowane zmiany ultrastrukturalne mogą przemawiać za zaburzeniem procesu wydzielniczego w pęcherzykach nasiennych w warunkach hipowitaminozy A.

PIŚMIENNICTWO

1. Deane H. W., Porter K. R. : *Anat. Rec.* **133**, 371, 1959.
2. Giędosz B. : *Nowiny Lekarskie.* **24**, 420—427, 1946.
3. Hohlweg W., Laschet U. : *Vitamine und Hormone* : **8**, 164—184, 1^o 58.
4. Latański M. : *Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Lublin, Sec. D.* **23**, 167—184, 1968.
5. Limanowski A. : *Endokrynol. pol.* **16**, 553—565, 1965.
6. Mason K. E. : *Amer. J. Anat.* **52**, 153—158, 1933.
7. Moore T. : *Vitamin A.* Elsevier Publishing Company, London, Princeton, 1957.
8. Pałowska A. : *Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Lublin, Sec. D.* **25**, 53—74, 1970.
9. Szirmai J. A., Van Der Linde P. C. : *V Internat. Congr. Electr. Micros. Philadelphia.* TT—9, 1962.
10. Vaughan M. G., Seward C. R., Spivey Fox M. R. : *J. Nutr.* **97**, 8—12, 1969.

Otrzymano 16.VI.1971

Objaśnienia do rycin

- BM — błona podstawowa (basement membrane)
- CM — błona komórkowa (cell membrane)
- BC — komórka podstawowa (basal cell)
- D — desmosomy (desmosomes)
- ER — ergastoplazma (rough endoplasmic reticulum)
- G — struktury Gołgiego (Golgi complex)
- L — światło gruczołu (lumen of gland)
- M — mitochondria (mitochondria)
- Mv — mikrokosmki (microvilli)
- N — jądro (nucleus)
- R — rybosomy (ribosomes)
- Re — gładkie retikulum endoplazmatyczne (smooth endoplasmic reticulum)
- SC — komórka cylindryczna (secretory cell)
- V — pęcherzyki wydzieliny (secretory vesicles)

Ryc. 1, 2, 4, 13 — pow. (magn.) 50 000 ×.

Ryc. 3 — pow. (magn.) 30 000 ×.

Ryc. 5. — pow. (magn.) 42 000 ×.

Ryc. 6, 9, 11 — pow. (magn.) 58 000 ×.

Ryc. 7. — pow. (magn.) 25 000 ×.

Ryc. 8 — pow. (magn.) 38 000 ×.

Ryc. 10 — pow. (ma n.) 66 500 ×.

Ryc. 12 — pow. (magn.) 47 000 ×.

РЕЗЮМЕ

Автор обратил внимание на то, что в условиях гиповитаминоза А в субмикроскопической структуре цилиндрических и основных клеток оболочки семен-

ных пузырьков крысы произошли изменения, характеризующиеся расширением каналов эргастоплазмы и околоядерного пространства в обоих типах клеток, а также повреждением структуры митохондрий, уменьшением количества микровиллий и зерен секрета в цилиндрических клетках. Отмеченные изменения могут свидетельствовать о нарушении секреторного процесса в семенных пузырьках.

SUMMARY

Hypovitaminosis A brought about changes in the ultrastructure of both cylindric and basal cells of the seminal vesicles of the rat, appearing as the enlargement of ergastoplasmic tubules and perinuclear space. Besides, it caused the damage of mitochondrial structure and a decrease in the number of microvilli and secretory granules only in the cylindric cells. The above-mentioned changes may be the evidence of disturbances in the secretory process taking place in the seminal vesicles.

