

Samodzielna Pracownia Mikroskopii Elektronowej. Instytut Biologiczno-Morfologiczny.
Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: prof. dr hab. Maciej Latański

Maciej LATALSKI, Daniela OBUCHOWSKA

**Badania mikroskopowo-elektronowe nad lokalizacją fosfataz
w nabłonku pęcherzyków nasiennych szczura**

Микроскопно-электронные исследования размещения фосфатаз в семенных
пузырьках эпителия у крыс

Investigations under the Electron Microscope on the Localization of Phosphatases
in the Epithelium of Seminal Vesicles in Rats

Badania pęcherzyków nasiennych w mikroskopie elektronowym prowadzili Deane (2), Szirmai i wsp. (10), Toner i wsp. (11), Latański (4), Obuchowska (7) i inni. Przebadano budowę submikroskopową tych gruczołów u myszy, chomika złocistego, królika i szczura, a obserwacji dokonywano w warunkach fizjologicznych i doświadczalnych. Stwierdzono, że nabłonek pęcherzyków nasiennych utworzony jest z dwóch rodzajów komórek — podstawowych i cylindrycznych komórek wydzielniczych. Komórki podstawowe umieszczone są bezpośrednio na błonie podstawnej nabłonka, pojedynczo lub w skupieniach po 2—3. Posiadają owalny lub okrągły kształt. Komórki cylindryczne występują w większej ilości. Dolnym biegunem opierają się o błonę podstawną pomiędzy komórkami podstawowymi lub na ich szczycie. Powierzchnię nabłonka osiągają jedynie wydzielnicze komórki cylindryczne.

Rajendra i wsp. (9) opisali rozmieszczenie niektórych enzymów w pęcherzykach nasiennych u *Suncus* w mikroskopie świetlnym. Celem naszej pracy było przedstawienie lokalizacji fosfatazy kwaśnej i fosfatazy zasadowej w nabłonku pęcherzyków nasiennych szczura w mikroskopie elektronowym.

MATERIAŁ I METODY

Wycinki pęcherzyków nasiennych do badań w mikroskopie elektronowym pobierano od szczurów w narkozie eterowej. Materiał do badań cytochemicznych utrwalano w 4% aldehydzie glutarowym zbuforowanym 0,2 M buforem kakodylowym o pH 7,2 przez 2 godz. w temp. 0—4°C, po czym płukano przez 2 godz. w buforze kakody-

lowym o takim samym *pH* i w takiej samej temperaturze. Następnie materiał krojono na mikrotomie mroźniowym na skrawki o grubości ok. 30 μ . Odczyn na fosfatę zasadową wykonywano według metody Olędzkiej-Słotwińskiej i wsp. (8). Skrawki inkubowano w płynie inkubacyjnym przez 30 min. przy *pH* 8,5 w temp. 37°C. Odczyn na fosfatę kwaśną wykonywano według metody Gomoriego (3). W przypadku tego odczynu skrawki inkubowano w płynie inkubacyjnym przez 20 min. przy *pH* 5 w temp. 37°C. W obu przypadkach skrawki po inkubacji dotrwalano w 1% CsO₄ w buforze Michaelisa przez 1 godz. w lodówce. Potem odwadniano i zatapiano w Eponie 812. Ultracienkie skrawki wykonywano na ultramikrotomie Tesla BS 490 (CSSR), oglądano i fotografowano w mikroskopie elektronowym Tesla BS 613 (CSSR).

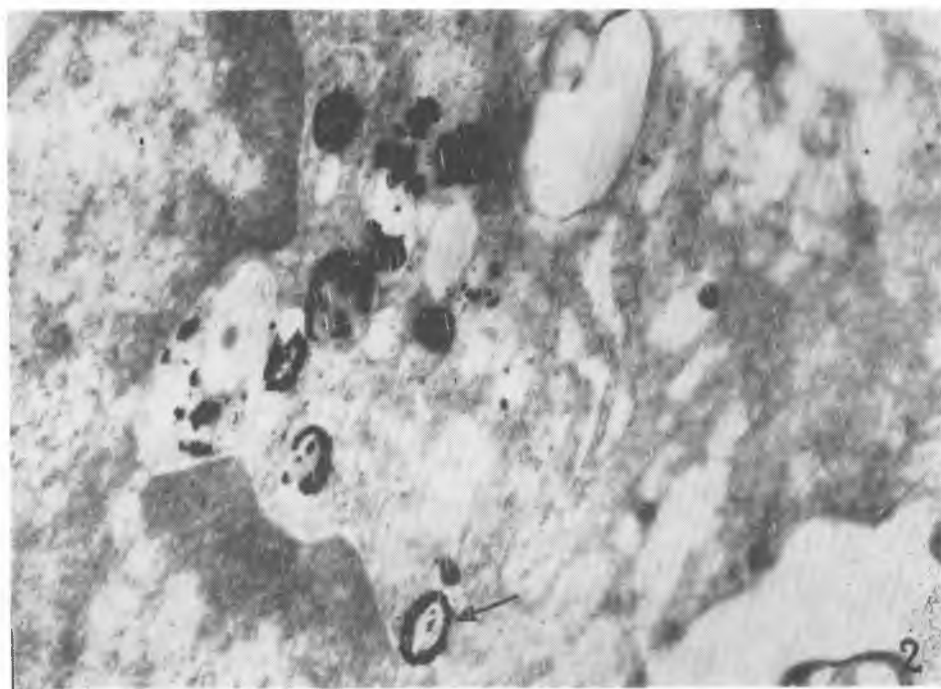
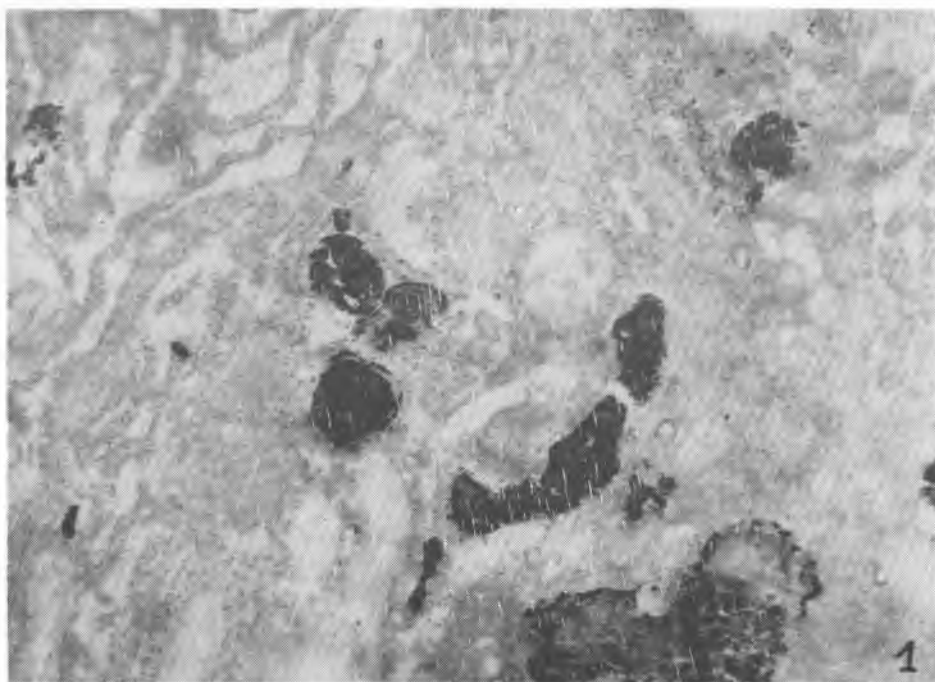
BADANIA WŁASNE

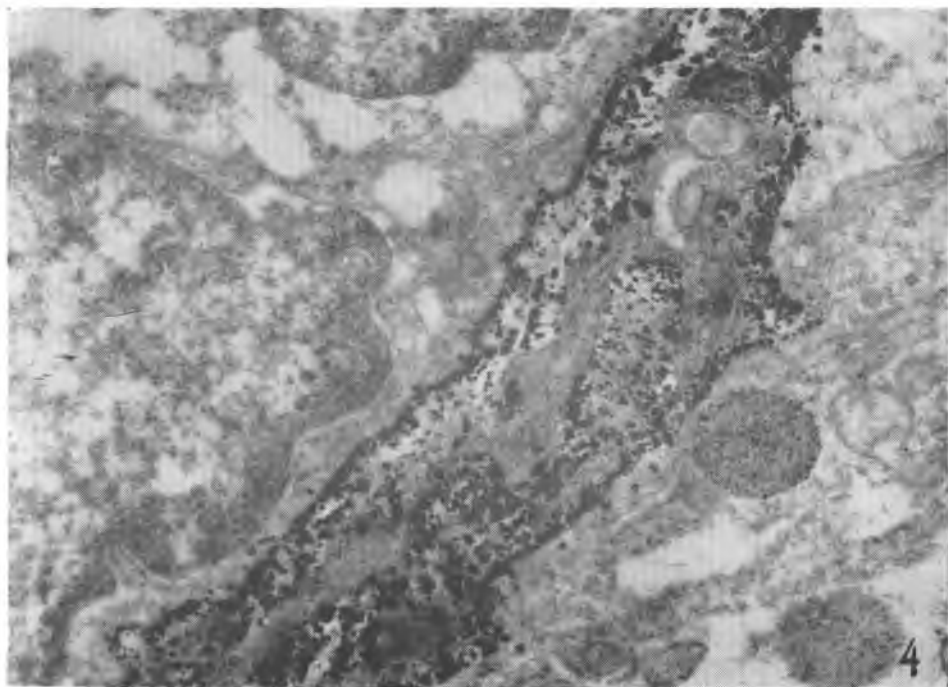
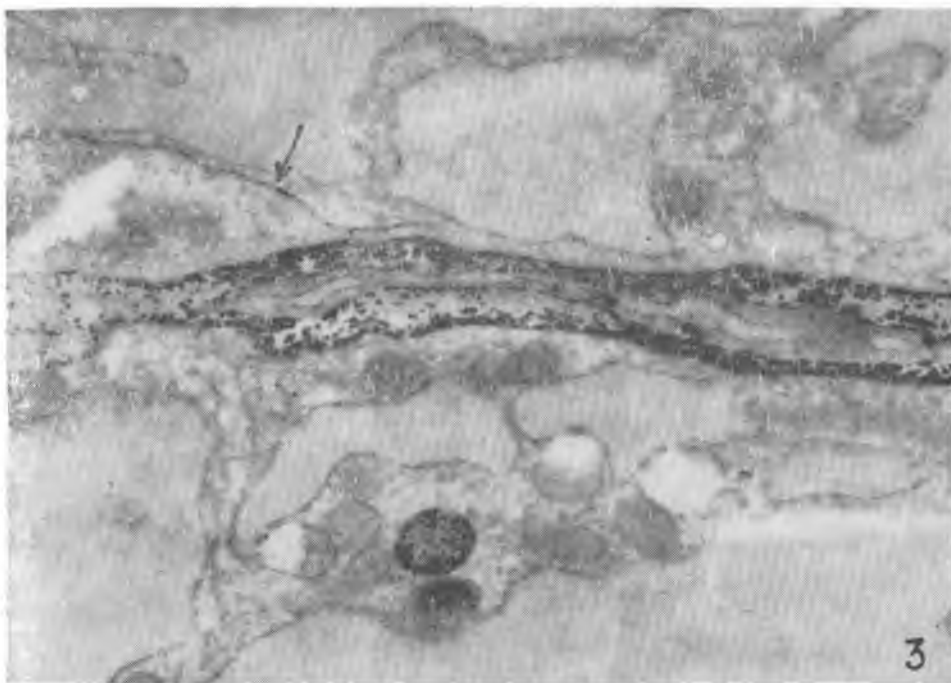
Fosfataza kwaśna. Produkt reakcji na fosfatę kwaśną obserwowano w cytoplazmie komórek wydzielniczych oraz komórek bazalnych. Był on obecny w organellach odpowiadającym lizosomom, zarówno pierwotnym, jak i wtórnym, występujących w częściach podstawnej i przyjądrowej komórek (ryc. 1, 2). Ponadto pozytywną reakcję na ten enzym obserwowano w zamkniętych pierścieniowato kanałach gładkiej siatki śródplazmatycznej (ryc. 2 — strzałka), zwykle w sąsiedztwie aparatu Golgiego.

Fosfataza zasadowa. Odczyn na fosfatę zasadową występował głównie w błonie komórkowej w części bazalnej komórek oraz w błonie podstawnej i leżącej pod nią tkance łącznej (ryc. 3, 4). Produkt reakcji miał charakter grubych ziaren rozmieszczonych linijnie w otoczkach komórkowych (ryc. 3, 4) lub nierównomiernie w obrębie błony podstawnej nabłonka i tkance łącznej (ryc. 3, 4). Sporadycznie niewielkie ilości produktu reakcji na fosfatę zasadową obserwowano w gładkich błonach retikulum endoplazmatycznego (ryc. 3 — strzałka), w strukturach przypominających lizosomy (ryc. 3, 4) i w mikrokosmkach.

DYSKUSJA

Badania cytochemiczne komórek nabłonka pęcherzyków nasiennych szczurów ujawniły szereg struktur komórkowych, które ze względu na obecność w nich produktu reakcji na fosfatę kwaśną należy zaliczyć do lizosomów. Niektórzy autorzy (4, 7) opisujący ultrastrukturę pęcherzyków nasiennych stwierdzali niewielką ilość lizosomów w komórkach tych gruczołów. Po wykonaniu reakcji cytochemicznej na fosfatę kwaśną stwierdziliśmy obecność produktu reakcji w typowych strukturach opisywanych jako lizosomy pierwotne lub wtórne, a ponadto w „strukturach pierścieniowatych”. Takie struktury, zgodnie z opinią Novikoffa i wsp. (6),





można uważać za wczesne stadium powstawania wakuol autofagowych. Ich bliskie sąsiedztwo z aparatem Golgiego wskazuje na ścisły związek funkcjonalny struktur Golgiego z retikulum endoplazmatycznym w zakresie tworzenia się lizosomów wtórnych.

Dodatni odczyn na fosfatazę zasadową w naszej pracy obserwowaliśmy przede wszystkim w błonie komórkowej w części bazalnej komórek oraz w błonie podstawnej nabłonka i tkance łącznej. Drobne ziarna produktu reakcji występowały sporadycznie w innych miejscach w cytoplazmie, w gładkich błonach retikulum, w organellach przypominających lizosomy oraz w błonie pokrywającej mikrokosmki. Clark (1) utrzymuje, że na poziomie ultrastruktury fosfataza zasadowa występuje głównie w błonach komórkowych oraz w niektórych błonach cytoplazmatycznych (gładkie błony retikulum endoplazmatycznego) w różnych typach komórek nabłonkowych. Autor ten uważa, że lokalizacja produktu reakcji nie musi się pokrywać z właściwym miejscem występowania enzymu. Z tego powodu na terenie cytoplazmy można zaobserwować szereg struktur, w których występowanie produktu reakcji uważa się jako artefakt (na przykład jądro komórkowe, drobne pęcherzyki w pobliżu rąbka szczoteczki, w których zwykle pojawia się produkt reakcji na fosfatazę kwaśną). W naszej pracy, zgodnie z opinią Clarka (1), za artefakt należałoby uważać występowanie niewielkiej ilości produktu reakcji w organellach podobnych do lizosomów.

Występowanie odczynu na fosfatazę zasadową w otocze komórkowej, błonach gładkich siatki śródplazmatycznej i błonie podstawnej komórek nabłonka gruczołów Cowpera obserwował Latański i wsp. (5). Obserwacje te oraz dotyczące obecności fosfatazy zasadowej są zgodne z doniesieniami Rajendra i wsp. (9) stwierdzającymi występowanie tego enzymu w dodatkowych męskich gruczołach płciowych u *Suncus*, nie określającymi jednak bliżej ich wewnątrzkomórkowej lokalizacji. Spostrzeżenia nad obecnością fosfatazy zasadowej w tego typu gruczołach, jak się wydaje, mają znaczenie z uwagi na produkcję fruktozy wchodzącej w skład nasienia. Rajendra i wsp. (9) utrzymują, że dodatkowe męskie gruczoły płciowe są głównym miejscem produkcji tego węglowodanu. Sprecyzowanie miejsca występowania produktu reakcji na fosfatazę zasadową w mikroskopie elektronowym pozwala przypuszczać, że proces powstawania i transportu fruktozy przebiega głównie w zrębie łącznotkankowym i błonie podstawnej oraz błonach komórkowych w części bazalnej komórek nabłonkowych pęcherzyków nasiennych i gruczołów Cowpera.

PIŚMIENNICTWO

1. Clark Jr. S. L.: Amer. J. Anat. **109**, 57—84, 1961.
2. Deane H. W.: Nat. Cancer. Inst. Monogr. **12**, 63—83, 1963.
3. Gomori G.: J. Histochem. Cytochem. **2**, 209—215, 1954.
4. Latański M.: Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Lublin, sectio D **23**, 167—184, 1968.
5. Latański M., Obuchowska D.: Badania mikroskopowo-elektronowe nad lokalizacją fosfataz w komórkach nabłonkowych gruczołów opuszkowo-cewkowych szczura (w druku).
6. Novikoff P. M., Novikoff A. B., Quintana N., Hauw J. J.: J. Cell. Biol. **50**, 859—886, 1971.
7. Obuchowska D.: Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Lublin, sectio D **26**, 337—343, 1971.
8. Olędzka-Słotwińska H., Creemers J., Desmet V.: Histochemie **9**, 320, 326, 1967.
9. Rajendra P. G., Rajendra S. M.: Acta Histochem. **56**, 175—179, 1976.
10. Szirmai J. A., Van der Linde P. C.: The Fine Structure of the Seminal Vesicles in Normal and Castrated Rat. V Internat. Congr. Electr. Philadelphia 1962, t. 9.
11. Toner P. C., Baillie A. H.: J. Anat. **100**, 173—188, 1966.

Otrzymano 27 II 1978.

OBJASNIENIA RYCIN

Ryc. 1. Reakcja na fosfatazę kwaśną w lizosomach komórek nabłonkowych pęcherzyków nasiennych szczura. Pow. ok. 25000×.

Ryc. 2. Reakcja na fosfatazę kwaśną w „strukturach pierścieniowych” (strzałka) w komórkach nabłonkowych pęcherzyków nasiennych szczura. Pow. ok. 25000×.

Ryc. 3. Reakcja na fosfatazę zasadową w pęcherzykach nasiennych szczura. Reakcja enzymatyczna występowała w gładkich błonach retikulum (strzałka), błonie komórkowej i podstawnej oraz w tkance łącznej. Pow. ok. 25000×.

Ryc. 4. Reakcja na fosfatazę zasadową w pęcherzykach nasiennych szczura. Aktywność enzymu była widoczna w błonach komórkowej i podstawnej oraz w tkance łącznej. Nieznaczna aktywność występowała w lizosomo-podobnych strukturach. Pow. ok. 25000×.

РЕЗЮМЕ

Цитохимические исследования, проведенные при помощи электронного микроскопа, указывают на наличие положительной реакции на кислую и щелочную фосфатазу в клетках эпителия семенных пузырьков у крыс. Реакция на кислую фосфатазу получена в типичных лизосомах и в перстневидных структурах, соответствующих аутофаговым вакуолям. Продукт реакции на щелочную фосфатазу наблюдался в основном в стромах соединительной ткани, в базальной мембране и клеточных мембранах основной части клеток. Наличие щелочной фосфатазы может подтверждать деятельное участие мужских дополнительных половых желез в процессе создания фруктозы, входящей в состав спермы.

SUMMARY

In cytochemical investigations under the electron microscope, the presence of a positive reaction to acid and alkaline phosphatase in the epithelium cells of seminal vesicles in rat was ascertained. The activity for acid phosphatase appeared in typical lysosomes and in annular structures corresponding to autophagosomes. The reaction's product to alkaline phosphatase was observed in the stroma of the connective tissue, in the basement membrane and in the cell's membranes in the basal section of the cells. The presence of alkaline phosphatase may confirm the involvement of the male sexual accessory glands in the formation process of the fructose which is a part of a sperm.

EXPLANATION OF FIGURES

Fig. 1. Acid phosphatase reaction in lysosomes of the epithelial cells of the seminal vesicles of the rat. Magn. ca 25000X.

Fig. 2. Acid phosphatase reaction in "annual structures" (arrow) in the epithelial cells of the seminal vesicles of the rat.

Fig. 3. Alkaline phosphatase reaction in the seminal vesicles of the rat. Enzyme reaction existed in smooth endoplasmatic reticulum (arrow), both cells and basal membrane and connective tissue. Magn. ca 25000X.

Fig. 4. Alkaline phosphatase reaction in the seminal vesicles of the rat. Enzyme activity was seen in both cells and basal membrane and connective tissue. Little activity in lysosome-like structures was observed. Magn. ca 25000X.

ANNALES UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA

Nakład 600+25 egz., ark. wyd. 37, ark. druk. 27,25+74 str. wkł. kred.+1 wkł. Papier druk. sat. chamois III kl. B1, 80 g. Oddano do składu w czerwcu 1978 r., podpisano do druku w lipcu 1979 r., wydrukowano w listopadzie 1979 r. Cena zł 111,—

Tłoczono w Drukarni UMCS w Lublinie, zam. nr 375/78, M-7

ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN — POLONIA

VOL. XXXII

SECTIO D

1977

18. K. Grzycka: An Introductory of the Cytostatic Activity of some Hydrazines and their Derivatives.
19. A. Książek: Serotonin and 5-hydroxyindoloacetic Acid in Rats with Experimental Uremia.
20. A. Kruszewska: The Central Effect of Normetanephrine. The Interaction of Normetanephrine with Compounds Affecting the Central Nervous System.
21. Z. Kleinrok, E. Jagiełło-Wójtowicz: The Influence of some Anti-convulsant Drugs on the Acute Toxicity of Disopropylfluorophosphate in Mice.
22. Z. Kleinrok, M. Wielosz: Central Action of Noradrenaline in Rats Pre-treated with Atropine.
23. Z. Kleinrok, M. Wielosz: Central Action of 5-Hydroxytryptamine in Rat Treated with Atropine and Scopolamine.
24. S. Z. Łozowski, I. Urban: Changes in Blood Glucose and Free Fatty Acid Levels Evoked by ACTH in Rats.
25. M. Błaziak: The Evaluation of some Lipid Compounds in Women's Serum during Delivery.
26. A. Fidor, H. Welcz: Behaviour of the Total Protein and γ -globulin Concentration in Cerebro-Spinal Fluid in some Diseases of the Nervous System.
27. H. Brzuszkiewicz-Zarnowska, A. Kornas, T. Borkowski: The Isoacceptors of Phenylalanyl-tRNAs of the Calf Brain.
28. W. Soroczan: Action of Selected Chemotherapeutics, Disinfectant Agents and Fertilizers on the Survival of *Strongyloides stercoralis* Larvae (*Nematoda*, *Strongyloididae*).
29. S. Biliński, D. Misiuna, L. Bielak, B. Marcewicz: The Tautomerism: [4-phenyl-thiazolone-(2)]-hydrazone \rightleftharpoons 2-hydrazino-4-phenylthiazole. The Derivatives of Aldehyde.
30. S. Biliński, J. Chmielewski: Selenazoles. III. The Reaction of Isonicotinic Acid 4-R-selenosemicarbazides with Chloracetone.
31. S. Biliński, J. Chmielewski: Selenazoles. IV. The Reaction of Isonicotinic Acid 4-R-selenosemicarbazides with Omega-chloracetophenone.
32. S. Biliński, J. Chmielewski: Selenazoles V. The Spectrophotometrical Analysis of the Products of the Reaction of Isonicotonic Acid 4-R-selenosemicarbazides with Chloracetone and Omega-chloracetophenone.
33. A. Kruszewska, J. Modzelewski, E. Tamborska, R. Langwiński: Preliminary Pharmacological Investigations of Five New Derivatives of Benzoxazolone.
34. E. Mazur, J. Stażka: Effect of Histamine on Tissue Respiration of the Cardiac Muscle of Rats Treated with Antihistaminic.

ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN—POLONIA

VOL. XXXII

SECTIO D

1977

35. T. Krzaczek: Pharmacobotanical Research of the Sub-Species *Viscum album* L. Acids and Amines.
36. S. Bryc, K. Kowalski: Value of Abdominal Compression in the X-Ray Diagnosis of the Esophagus.
37. E. Buczyński, B. Adamska: A Rare Case of Reticulohistiocytosis with Accompanying Cutaneous Eruptions.
38. J. Staszyc: Dr Władysław Biegański — an Universalist and Encyclopedist Physician (on the 120th Anniversary of his Birthday).
39. M. Kobylińska-Szymańska, W. Froch: Diseases and Methods of Treating them as Described in the Diary of Bazyli Rudomicz, Rector of the Zamość Academy in the Seventeenth Century.
40. K. Grzycka, J. Miłowska: Research on the Cytostatic Compound Activity of Rutin, Quercite and Hydroxyquinoline Derivatives.

Adresse:

UNIWERSYTET MARII CURIE-SKŁODOWSKIEJ
BIURO WYDAWNICTW

Plac Marii

Curie-Skłodowskiej 5

20-031 LUBLIN

POLOGNE

Cena zł 111,—