

## Das Nebenhodengangepithel der Ratte nach Hypophysektomie und nach Androgensubstitution

Bei der geschlechtsreifen Ratte besteht das zweizeilige Nebenhodengangepithel aus den flachen, kegelförmigen Basalzellen und den wechselnd hohen Zylinderzellen (Androgenwirkung und Dehnungseffekt je nach Gangfüllung), die nach Hauptzellen und den weniger häufigen Nebenzellen zu unterscheiden sind<sup>1-3</sup>.

Die Hauptzellen bieten elektronenmikroskopisch folgendes Bild: Der stark gelappte Kern verfügt über 1-2 Nucleoli, zeigt eine gleichmäßige Chromatinverteilung und liegt unterhalb der Zellmitte. Der basale Zellbereich wird von einem gut ausgebildeten z.T. eng-, z.T. weit-spaltigen endoplasmatischen Retikulum (ER) eingenommen, das arm an membrangebundenen Ribosomen ist. Das ER erstreckt sich bis in die apikale Zone, erfährt in Kernhöhe eine Verengung seines Gangsystems und wird supranuklear von auffälligen Golgi-Komplexen, bestehend aus zahlreichen Lamellen und Bläschen, durchsetzt. Apikal nimmt das ER mehr cisternenartiges Aussehen an. Die Randzone birgt eine grosse Zahl kleiner Bläschen und grenzt mit einem gleichmäßig ausgebildeten Stereocilienraum an die Lichtung. Mitochondrien vom Crista-Typ finden sich vorwiegend in den Bereichen des ER. Cytosomen unterschiedlichen Aussehens liegen meist in Kernnähe. Grössere Bläschen und vesikelhaltige Vakuolen sind supranuklear anzutreffen, während Fetttröpfchen bevorzugt infranuklear zwischen den Cytomembranen auftreten können.

Die Nebenzellen fallen durch ihre wechselnde Gestalt sowie durch ihr helleres Aussehen auf und zeigen folgende Besonderheiten: Der Kern, dessen Lage in der Zelle variiert, ist nicht gelappt und besitzt an der Kernmembran einen schmalen, verdichteten Chromatinsaum. Das ER ist weitlumig und in seiner Ausdehnung wechselnd. Die supranuklear gelegenen Golgi-Komplexe sind sehr bescheiden ausgebildet. Von basal nach apikal lassen sich 4 Komponenten in unterschiedlichen Relationen beobachten: (1) Fetttröpfen, (2) lamelläre Cytosomen, (3) Cytosomen mit granulärem Inhalt verschiedener Dichte und (4) Vakuolen wechselnder Grösse mit transparent-flockigem Inhalt bis zur Leere. Mitochondrien vom Crista-Typ sind vorwiegend supranuklear im Bereich der Vakuolen anzutreffen. Vereinzelt finden sich Mitochondrien mit Orientierung der Cristae parallel zur Längsachse. Der Stereocilienbesatz unterliegt starken Schwankungen.

Bei lichtmikroskopischer Untersuchung sind nach Champy-Fixierung in den basalen Bereichen der Nebenzellen starke und in denen der Hauptzellen mässige Ansammlungen osmiophiler Substanzen zu beobachten. Nach PJS-Behandlung (Bouin-Fixierung) reagiert das Cytoplasma der Hauptzellen zwischen Kern und Oberfläche schwach positiv und enthält in Kernnähe einzelne stärker tingierte Granula. In den Nebenzellen sind im Bereich des Kernes und supranuklear stark positive Körnchen auffällig, die in bezug auf Grösse, Menge und Verteilung variieren.

Die Hypophysektomie führt zu einer Atrophie des Epithels, wobei die Kennzeichen der Haupt- und Nebenzellen verschwinden. Nach Androgensubstitution erfolgt die Wiederentfaltung und die Redifferenzierung der beschriebenen Zelltypen. Die auffälligsten, zeitlich abgestuften Veränderungen zeigen die Nebenzellen, die nachfolgend hervorgehoben werden.

**Versuchsbedingungen:** Die Ratten (Wistar) wurden im Alter von 60 Tagen hypophysektomiert. 40 Tage nach der Operation erfolgte die Androgenbehandlung (4 · 5 mg Testosteronpropionat innerhalb von 8 Tagen). Das Unter-

suchungsmaterial (Hoden und Nebenhoden) wurde 1, 2, 3, 4, 5, 7 und 9 Wochen nach der Testosteronapplikation entnommen und der Nebenhodengang im Bereich des Corpusabschnittes licht- und elektronenmikroskopisch untersucht.

Die Auswirkung der Hypophysektomie betrifft den Nebenhoden insgesamt durch Verkleinerung des Gangsystems, Schwund des interstitiellen Gewebes und Atrophie der Zellen.

Der Nebenhodengang (Corpusabschnitt) hat einen Durchmesser von ca. 70 nm und ist damit im Vergleich zu den Verhältnissen beim Normaltier (ca. 250 nm) auf etwa ein Drittel reduziert. Die *Tunica propria* ist entspannt und erscheint dadurch verbreitert. Die Epithelzellen sind atrophiert und täuschen einen mehrschichtigen



Fig. 1. Nebenhodengangepithel (Corpus); Ratte, 40 Tage nach Hypophysektomie. BZ = Basalzellen; Z1 und Z2 = differente Zylinderzellen (s. Text).  $\times 5100$ .

<sup>1</sup> W. FÄHRMANN und E. SCHUCHARDT, Naturwissenschaften 52, 212 (1965).

<sup>2</sup> W. FÄHRMANN und E. SCHUCHARDT, Naturwissenschaften 52, 620 (1965).

<sup>3</sup> W. FÄHRMANN und E. SCHUCHARDT, Z. mikrosk.-anat. Forsch. 74, 337 (1966).

Verband vor. Die PJS-Reaktion fällt negativ aus. In dem nach Champy fixierten Material sind aus den Epithelzellen die osmiophilen Substanzen verschwunden. Die Lichtungen des Gangsystems sind weitgehend frei.

Nach der Testosterongabe kommt es bereits in der 1. Woche zur Ausbildung des typischen zweizeiligen Zellverbandes mit Abflachung der *Tunica propria* und zu einer Verdoppelung des Gangdurchmessers (ca. 140 nm), der im weiteren Verlauf (bis zur 9. Woche) sich nicht mehr wesentlich vergrößert und mit ca. 160 nm jedoch um ein Drittel hinter den Abmessungen des Normaltieres zurückbleibt. Von der 1. Woche ab beginnt das Ganglumen sich mit einer amorphen, PJS-positiven Masse zu füllen, die von Woche zu Woche zunimmt.

Die lichtmikroskopische Betrachtung des Verbandes der Zylinderzellen lässt eine Woche nach Testosterongabe vereinzelt schlanke Elemente erkennen, deren Kerne oval

sind, eine mehr apikale Lage einnehmen und deren Oberfläche schwach von Stercobilien besetzt ist. Im basalen Cytoplasma finden sich Körnchen von osmiophiler Substanz und in der apikalen Zone vereinzelt PJS-positive Granula. Die übrigen Zylinderzellen sind plumper, besitzen einen runden Kern in mehr basaler Position und einen dichten Stereociliensaum. PJS-positive und osmiophile Materialien sind minimal vorhanden. Diese Zelldifferenzen weisen auf Neben- bzw. Hauptzellen hin.

Die Hauptzellen zeigen von der 2. Woche ab eine geringfügige Zunahme der PJS-positiven und der osmiophilen Granula. Die Nebenzellen werden von Woche zu Woche zahlreicher. Die Masse der osmiophilen Substanz in der basalen Zone steigt kontinuierlich, gefolgt von einer Zunahme der PJS-positiven Granula im apikalen Bereich mit Ausdehnung in die Kernzone. 4 Wochen nach Testosterongabe ist das Nebenhodengangepithel nicht von dem eines gleichaltrigen Normaltieres zu unterscheiden. Bei längerer Zeitspanne (7 und 9 Wochen nach Testosteronbehandlung) verstärkt sich in den Nebenzellen sowohl die Lipidbeladung als auch die Ansammlung des PJS-positiven Materials, die zudem auf die infranucleäre Zone übergreift, während die Hauptzellen keine Veränderung zeigen.

Dem elektronenmikroskopischen Bild des Nebenhodenanges nach Hypophysektomie (Figur 1) ist folgendes zu entnehmen: Die Basalmembran verläuft unregelmäßig und ist von sich kreuzenden und im Verlauf gewellten kollagenen Fibrillenbündeln unterisiert, die nach Kern und Zelleib vielgestaltige Fibrozyten einschliessen. Der Basalmembran sitzen in engem Verband die im Volu-

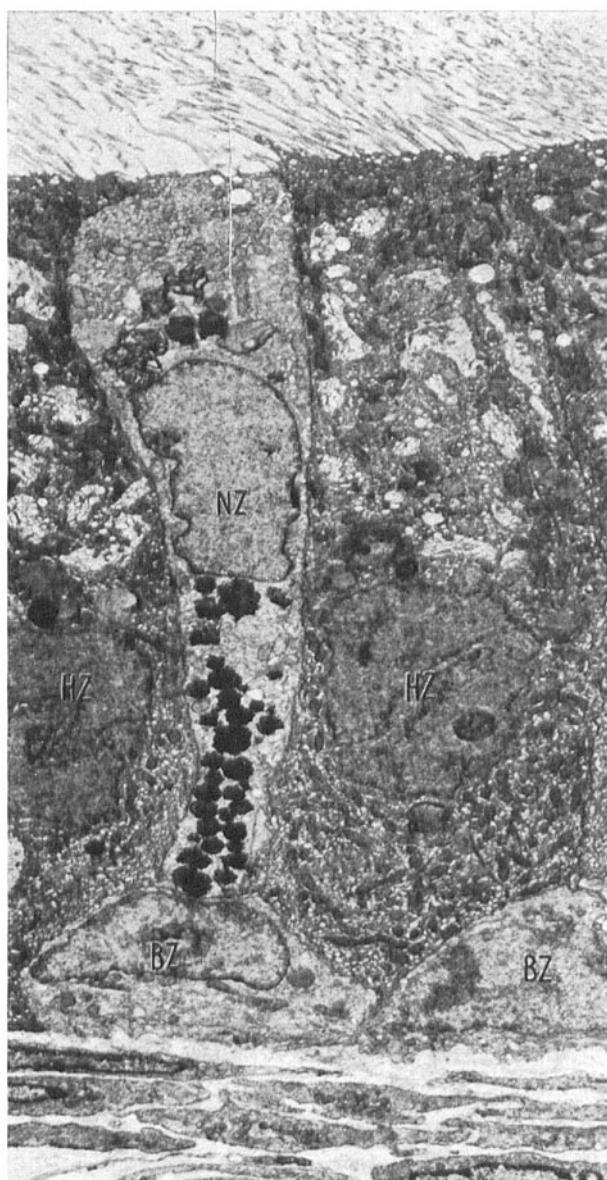


Fig. 2. Nebenhodengangepithel (Corpus); Ratte, 40 Tage nach Hypophysektomie und 9 Wochen nach Testosteronbehandlung. BZ = Basalzellen, HZ = Hauptzellen, NZ = Nebenzelle.  $\times 5100$ .

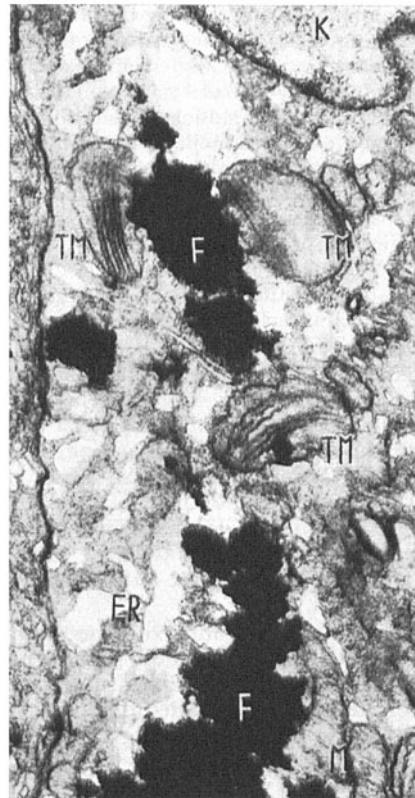


Fig. 3. Transformierte Mitochondrien (TM) in einer Nebenzelle. Ratte, 40 Tage nach Hypophysektomie und 4 Wochen nach Testosteronbehandlung. ER = endoplasmatisches Retikulum, F = Fettropfen, K = Kern, M = Mitochondrien.  $\times 21000$ .

men reduzierten Epithelzellen auf. Die Basalzellen scheinen eine geschlossene Kette zu bilden. Der Verband der Zylinderzellen wirkt nach der Schnittrichtung und der differenten Höhenlage der Kerne mehrschichtig. Die Zellen sind durch starke Plasmalemmfalten miteinander verzahnt. Bei der Polymorphie der Kerne ist allen eine gehäufte Ansammlung und Klumpung des Chromatins, besonders an der Kernmembran, gemeinsam. Das ER ist reduziert. Die Zahl der Mitochondrien hat sich verringert. Die Golgi-Komplexe sind stark verkleinert und bläschenförmig erweitert. Die dichte apikale Zone trägt einen Stereocilienbesatz. Lipideinschlüsse werden vermisst. Cytosomen differenter Art sind hingegen noch vorhanden. Von dem skizzierten Bild der Zylinderzellen weichen einzelne Zellen ab. Diese Elemente besitzen einen bescheidenen lamellären Golgi-Apparat. Die apikale Zone ihrer Zelleiber und die Randregion beherbergt kleine Bläschen und vereinzelt Vakuolen. Der Stereocilienbesatz ist spärlich. Sie ähneln in diesem Zellabschnitt einem Zelltyp (Typ B), der im Gangepithel noch nicht geschlechtsreifer Ratten (28 Tage alt) anzutreffen ist und als Vorläufer der Nebenzellen gelten kann<sup>8</sup>.

Die Gabe von 20 mg Testosteron führt schon nach 8 Tagen zu tiefgreifenden Veränderungen. Die *Tunica propria* und die Basalmembran verlaufen gestreckt. Die Bindegewebsszellen werden in der Folge aktiviert und nehmen die Kollagenbildung auf. Die Entfaltung der Hauptzellen hat in der 2. Woche einen Grad erreicht, der dem des Normalbildes entspricht. In den Zeitabständen bis zur 9. Woche werden keine Veränderungen auffällig (Figur 2). Die Nebenzellen verhalten sich anders. Ihre Entfaltung begleiten in der Zeitfolge strukturell qualitative und quantitative Veränderungen sowie numerische Zunahme. In den Frühstadien (1. und 2. Woche nach Testosterongabe) herrscht eine strenge Lokalisation der zuerst auftretenden Lipiddropfen im basalen Zellbereich vor. In der apikalen und in der Randzone finden sich zahlreiche kleine Bläschen, vereinzelt Vakuolen und dichte Cytosomen, seltener auch lamelläre Cytosomen. Diese Region beherbergt außerdem die Mehrzahl der

Mitochondrien. Mit zunehmender Anhäufung und Vergrößerung der Fettropfen verbindet sich eine Zunahme der Vakuolen im Randbereich, eine grösere Häufigkeit der dichten Cytosomen und die Ausbildung von lamellären Cytosomen, wobei beide Cytosomenarten in die Kernzone vordringen und später auch intranuklear anzutreffen sind (9. Woche). Von der 4. Woche ab werden in geringer Zahl Mitochondrien mit Orientierung ihrer Cristae parallel zur Längsachse beobachtet, die Veränderungen unterliegen (Figur 3). Die Basalzellen reagieren ebenfalls auf die Androgengabe.

Die beschriebene Morphodynamik des Nebenhoden-gängepithels lässt zwar an differente Aufgaben seiner Zellarten denken, erlaubt aber noch keine endgültigen Aussagen<sup>4</sup>.

**Summary.** The epithelium of the epididymal duct (corpus region) of the rat after hypophysectomy and after androgen substitution has been examined by light and electron microscopy. The epithelium consists of 3 different cell types: principal, accessory (Nebenzellen), and basal cells. The characteristics of these cells disappear after hypophysectomy and redifferentiate after androgen application. The alterations of the principal and accessory cells in course of time (from the 1st week up to 9 weeks after injection of 20 mg testosterone propionate) are the subject of this report.

P. TSOLKAS, W. FÄHRMANN  
und E. SCHUCHARDT

*Institut für Histologie und Neuroanatomie der  
Universität Göttingen (Deutschland),  
10. August 1966.*

<sup>4</sup> Durchgeführt mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft.

## Aerobic Glycolysis of Normal Tissues Suspended in Thoracic Duct Lymph

About 40 years ago WARBURG<sup>1</sup> stated that the formation of lactic acid from carbohydrate sources in the presence of a supply of oxygen (that is, aerobic glycolysis) is one of the most general and distinctive features of cancerous tissues. However, such a property, though closely associated with the neoplastic process, cannot be said to be essential for malignancy, since it is known that aerobic glycolysis is displayed also by some normal tissues, for instance brain, retina, kidney medulla and embryonic cells<sup>2</sup>.

Nevertheless, according to WARBURG, almost all the data showing that normal tissues glycolyse aerobically *in vitro* are fallacious, because they have been obtained with cells incubated in simple saline media, instead of more physiological media or similar body fluids. As a matter of fact, he has recently reported that normal rat or mouse tissue slices respectively suspended in homologous sera and in ascitic fluid of Ehrlich tumour, produce almost no lactic acid aerobically<sup>3</sup>.

However, neither fluids can be regarded as fully physiological media because their chemical composition is very different from that of the interstitial lymph in which the cells are normally immersed. Since interstitial lymph may be considered equivalent to the thoracic duct lymph, we thought it worth investigating the glycolytic behaviour of some normal rat tissues incubated in such body fluid.

Wistar rats of both sexes, weighing about 200 g each, were used throughout these experiments. The lymph was collected by cannulation of the thoracic duct according to the method of BOLLMAN, CAIN and GRINDLAY<sup>4</sup>,

<sup>1</sup> O. WARBURG, Biochem. Z. 142, 317 (1923).

<sup>2</sup> A. C. AISENBERG, *The Glycolysis and Respiration of Tumours* (Academic Press, New York 1961).

O. WARBURG, K. GAWEHN, and A. W. GEISSLER, *Weiterentwicklung der zellphysiologischen Methoden* (Thieme, Stuttgart 1962).

<sup>3</sup> J. L. BOLLMAN, J. C. CAIN, and J. H. GRINDLAY, J. Lab. clin. Med. 33, 1349 (1948).