

In vivo Methode zum Nachweis chemischer Schädigungen der DNS in Keimzellen des Kaninchens

Doctoral Thesis

Author(s):

Schmid, Beat

Publication date:

1979

Permanent link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-000189175>

Rights / license:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#)

Diss. ETH Nr. 6397

IN VIVO METHODE ZUM NACHWEIS CHEMISCHER SCHAEDIGUNGEN
DER DNS IN KEIMZELLEN DES KANINCHENS.

A B H A N D L U N G

zur Erlangung
des Titels eines Doktors der Naturwissenschaften
der

E I D G E N O E S S I S C H E N T E C H N I S C H E N
H O C H S C H U L E Z U E R I C H

vorgelegt von

B E A T S C H M I D
Phil. II UNI Zürich
geboren am 9. März 1949
von Zürich, Zürich

angenommen auf Antrag von
Prof. Dr. Ch. Schlatter, Referent
Prof. Dr. F.E. Würigler, Korreferent

Ch. Schlatter
27. 2. 79

I. Z U S A M M E N F A S S U N G

Ein in vivo Test zur Prüfung schädigender Wirkungen von Chemikalien in Keimzellen des Kaninchens wurde entwickelt.

DNS synthetisierende Keimzellen von männlichen Kaninchen wurden durch eine intratestikuläre Injektion von ^3H -Methylthymidin ($^3\text{H-T}$) markiert. Entsprechend den Spermatogenesestadien des Kaninchens wurden die Ejakulate in 2 - 4 tägigen Intervallen gewonnen. Die Spermienköpfe wurden isoliert und auf Radioaktivität untersucht. In den Spermien der Kontrolltiere wurde vom 39. Tag an DNS-Syntheseaktivität festgestellt. Zum Zeitpunkt der Markierung waren diese Zellen präleptotäne Spermatozyten und Spermatogonien. Spermien von Kaninchen, denen 22.5 mg/kg Methylmethansulfonat (MMS) injiziert wurde, zeigten bereits vom 20. Tag an eine signifikant erhöhte Einbaurate von $^3\text{H-T}$. Diese Spermien waren in ihrem Reifungsprozess späte Spermatozyten und frühe Spermatisiden, als das MMS appliziert wurde. Der $^3\text{H-T}$ Einschluss in diese Zellpopulationen weist auf eine DNS-Reparatursynthese (unscheduled DNA synthesis, UDS) hin, ein Prozess, der nach Schädigung der DNS auftritt und die ursprüngliche molekulare Einheit rekonstruiert. Die Reparatursynthese in Spermatozyten- und frühen Spermatisidenstadien war dann am höchsten, wenn $^3\text{H-T}$ unmittelbar nach dem MMS injiziert wurde. UDS konnte in diesen Stadien jedoch bis 8 h nach MMS-Behandlung nachgewiesen werden.

Mit der gleichen Versuchsanordnung konnte das Auftreten der DNS Reparatur in Spermatozyten und Spermatisiden nach einmaliger intravenöser Injektion von Cyclophosphamid, Doxorubicin, Prokardazin oder Hykanton nachgewiesen werden. Die Substanzen Isoniazid und Metronidazol verursachten selbst bei hohen Dosierungen keine UDS.

Nach Behandlung mit Cyclophosphamid, Doxorubicin und Procarbazine entwickelten sich die Spermatogonien nur zum Teil zu Spermien, währenddem bei MMS, Hykanton, Isoniazid und Metronidazole die Spermienzahlen auch bei höchster Dosierung für alle Stadien unverändert blieben.

I. S U M M A R Y

The following abstract describes a simple test system by which the effects of alkylating agents on male germ cells can be evaluated in vivo.

Germ cells of male rabbits were labeled by means of an intratesticular injection of ^3H -methylthymidine ($^3\text{H-T}$). According to the different stages of rabbit spermatogenesis ejaculates were collected in 2 - 4 day intervals. The sperm-heads were isolated and radioactivity was determined by liquid scintillation counting. In controls labeled sperms were demonstrated first on day 39-43. These cells were in the preleptotene spermatocyte phase at the time of $^3\text{H-T}$ injection. In rabbits treated once with 22.5 mg/kg methylmethanesulfonate (MMS) significant radioactivity occurred in sperms from day 20 onwards. These cells were in late spermatocyte and early spermatid phase when the treatment occurred. Incorporation of $^3\text{H-T}$ in these cell populations is interpreted as an expression of unscheduled DNA synthesis (UDS), a repair process initiated after chemical damage of germ cell DNA by MMS. UDS can be maximized when $^3\text{H-T}$ is injected immediately after MMS treatment. The fact that UDS was demonstrated even after 8 hours shows that the repair processes continued at a lower level for a considerable period of time.

UDS was also shown to occur in spermatocytes and spermatids after a single intravenous injection of cyclophosphamide, doxorubicin, procarbazine or hycanthone. Isoniazid and metronidazole both did not induce UDS.

Sperm counts were determined in all ejaculates. In cyclophosphamide, doxorubicin or procarbazine treated rabbits they decreased during the spermatogonial phase. After treatment with MMS, hycanthone, isoniazid or metronidazole the sperm counts remained within the range found in the PBS treated controls.