

Oddział Położniczo-Ginekologiczny. Wojewódzki Szpital Zespolony w Lublinie
Ordynator Oddziału: doc. dr hab. Józef Daniłoś

Józef DANIŁOŚ

**Zawartość cholesterolu w korze nadnerczy szczurów (samic)
młodych i starych**

Содержание холестерина в надпочечных железах у крыс (самок) молодых
и старых

The Content of Cholesterol in the Adrenal Cortex of Young and Old Rats (Females)

Przebadano metodą histochemiczną zawartość cholesterolu w korze nadnerczy szczurów (samic) młodych i starych. Stwierdzono mniejszą zawartość cholesterolu w korze nadnerczy zwierząt starych i jego nierównomierne zmniejszenie w poszczególnych warstwach.

Okres starzenia się organizmów, a szczególnie jego aspekty endokrynologiczne stały się przedmiotem zainteresowania licznych badaczy. Gruczołami wewnętrznego wydzielania, którym przypisuje się znaczną rolę w tym zakresie są nadnercza, a zwłaszcza ich kora. Na ogół przyjmuje się, że nadnercza w okresie starości stają się głównym źródłem wytwarzania hormonów sterydowych, łącznie z estrogenami, i zastępują w ten sposób wypadającą czynność hormonalną gonad (3).

Słuszność tego poglądu jest jeszcze sprawą nie rozstrzygniętą i dyskusyjną. Czynność hormonalną nadnerczy ocenia się na podstawie badań biochemicznych i histochemicznych.

Przy ocenie stanu czynnościowego kory nadnerczy metodami histochemicznymi posługiwano się różnymi kryteriami, jak badanie reakcji enzymatycznej, zawartości tłuszczów, cholesterolu i jego związków oraz kwasu askorbinowego.

Cholesterol jest bezpośrednim prekursorem w syntezie sterydów nadnerczowych i płciowych (1, 8, 12). Zmiany w syntezie sterydów w nadnerczach zwierząt doświadczalnych przez zahamowanie biosyntezy cholesterolu obserwowali Margoulies i Buret (5) oraz Givner i wsp. (4). Borkowski i Levin (2) wykazali, że cholesterol znajdujący się we krwi jest jedynym prekursorem zużytkowanym do syntezy kortyzolu przez nadnercza ludzkie. Spadkowi ilości cholesterolu w nadnerczach towarzyszy podniesienie zawartości kortykosterydów w odpływającej z gruczołu krwi żyłnej (11). Miętkiewski (6) stwierdził dużą ilość cholesterolu i jego estrów

w korze nadnerczy, obok innych zmian morfologicznych i histochemicznych, w okresie seksualnego spoczynku u kretów i ich zmniejszenie się w okresie przedruchowym.

Biorąc pod uwagę udział cholesterolu w biosyntezie hormonów sterydowych nadnercza, a tym samym w zmianach czynnościowych kory nadnerczy związanych z wiekiem, postanowiono przebadać zawartość cholesterolu w nadnerczach szczurzym w pełni dojrzałości płciowej i porównać z wynikami uzyskanymi u samic szczurów starych.

MATERIAŁ I METODYKA

Materiał do badań stanowiły nadnercza 40 białych szczurów (samic) szczepu mianowanego „Wistar”. Wszystkie zwierzęta przebywały w jednakowych warunkach i żywione były dietą standardową. Podzielono je na dwie grupy: grupa I — 20 zwierząt w wieku 6 mies., grupa II — 20 zwierząt w wieku 36 mies.

Po dekapitacji wydobywano szybko nadnercza i utrwalano wycinki z nadnerczy w 10% roztworze obojętnej formaliny w temp. 37°C i czasie 24 godz., a następnie badano metodami: 1) 0,5% roztworu digitoniny w 35% i 85% etanolu wg Pearse'a (7), 2) 0,5% i 1% wodnym roztworem digitoniny według Stokoe'a (10). Skrawki grubości 15 μ zamykano w żelu glicerolowym i oglądano w świetle spolaryzowanym.

WYNIKI BADAŃ

Grupa I (zwierzęta w wieku 6 mies.)

Tkanki załamujące podwójne światło uwidoczniły się w postaci silnie świecących kryształów na szaroczerwonym, szaroczarnym bądź czarnym tle. Pozostałe odcinki nadnerczy miały wygląd szaroczerwony, szaroczarny bądź czarny, zależnie od stopnia obrotów polaryzatora. Zwierzęta te podzielono na dwie podgrupy, w zależności od ilości i rozmieszczenia kryształów anizotropowych w odpowiednich warstwach kory nadnerczy.

Pierwszą stanowią nadnercza 12 szczurów, u których w warstwie kłębkowatej stwierdzono regularnie ułożone kryształy podwójnie załamujące światło. Przy dużym powiększeniu widoczne są małe kryształki w cytoplazmie komórki oraz w światłach naczyń włosowatych. Warstwa pasmowata zawiera więcej kryształów i złogi kryształów zgrupowanych, zwłaszcza w odcinkach przylegających do warstwy kłębkowatej i biegnących smugowato w głąb warstwy pasmowatej. Warstwa siatkowata trudno uwidacznia się w świetle spolaryzowanym. Obecne są w niej jedynie nieregularnie rozmieszczone drobne kryształy, zaś miejscami pozbawiona jest całkowicie kryształów anizotropowych (ryc. 1, 2).

Drugą grupę tworzą nadnercza 8 zwierząt, u których liczba i rozmieszczenie kryształów anizotropowych w warstwie kłębkowatej i siatkowatej

jest podobne do spotykanego w poprzedniej podgrupie. Natomiast warstwa pasmowata zawiera duże, liczne i nieregularnie rozmieszczone zespoły kryształów załamujących światło (ryc. 3).

Grupa II

(zwierzęta stare w wieku ok. 36 mies.)

U wszystkich zwierząt starych stwierdza się mniejszą liczbę kryształów załamujących światło. Ich rozmieszczenie w porównaniu z grupą I jest różne. Można ogólnie podzielić spotykane w nadnerczach tej grupy zwierząt obrazy na: 1) z niewielkim zmniejszeniem zawartości kryształów anizotropowych (ryc. 4, 5); 2) z bardzo znacznym zmniejszeniem zawartości kryształów anizotropowych w porównaniu z grupą I zwierząt (ryc. 6, 7).

We wszystkich nadnerczach obserwuje się mniejszą liczbę kryształów w warstwie kłębkowatej, jakkolwiek ich rozmieszczenie jest regularne. Drobne kryształki widoczne są w cytoplazmie komórek i naczyniach krwionośnych. W warstwie pasmowatej stwierdzono kryształy anizotropowe i pojedyncze zespoły kryształów, oddzielone od części kłębkowatej ciemnym polem, w którym przy dużym powiększeniu stwierdza się jednak bardzo drobne kryształki. W warstwie siatkowatej i części rdzennej obecne są liczne kryształy zwiększające się ilościowo od warstwy kłębkowatej w kierunku warstwy siatkowatej i części rdzennej, gdzie widać je w ścianie naczyń i ich świetle. W całej korze nadnerczy liczba kryształów zwiększa się w kierunku do warstwy siatkowatej i części rdzennej.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

W obrazach histochemicznych nadnerczy szczura widać wyraźną różnicę w zawartości cholesterolu między grupą młodych i starych zwierząt. U starych zwierząt zawartość tych związków we wszystkich warstwach kory nadnerczy jest wyraźnie mniejsza. Zmiany te są prawdopodobnie wyrazem nie tylko różnic w budowie morfologicznej nadnerczy u zwierząt starych, ale i wykładnikiem zmniejszonej aktywności czynnościowej tego gruczołu w zakresie biosyntezy hormonów sterydowych, zwłaszcza hormonów płciowych, androgenów i estrogenów (1, 8, 9, 12).

Ciekawym zjawiskiem jest zwiększenie się liczby kryształów cholesterolu u zwierząt starych, począwszy od warstwy kłębkowatej w kierunku warstwy pasmowatej i siatkowatej. Wydaje się, że z jednej strony można to tłumaczyć tym, że u zwierząt młodych w okresie dojrzałości płciowej występuje cykliczne, okresami duże, wytwarzanie hormonów płciowych i wydostawanie się ich do krwiobiegu. Procesy te odbywają

się prawdopodobnie w warstwie siatkowatej, zużytkowując znajdujący się tam cholesterol. U zwierząt starych czynność kory nadnerczy w zakresie wytwarzania hormonów płciowych nie jest tak intensywna i nie podlega cyklicznym wahaniom. Warstwy — pasmowata, a szczególnie siatkowata — zatrzymują więc cholesterol. Z drugiej jednak strony przesunięcie się cholesterolu w kierunku warstwy siatkowatej mogłoby świadczyć o zachowaniu przez nią aktywności hormonalnej przewyższającej pozostałe warstwy kory nadnerczy.

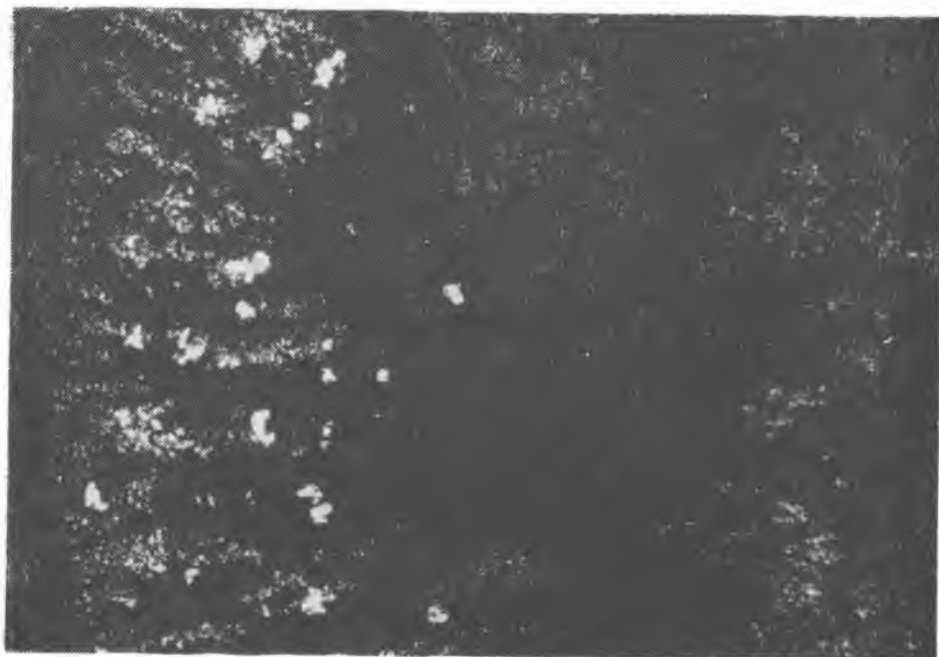
Wnioski

1. Zawartość cholesterolu oceniana histochemicznie w korze nadnerczy u szczuryc starych jest mniejsza niż u szczuryc w okresie dojrzałości płciowej.

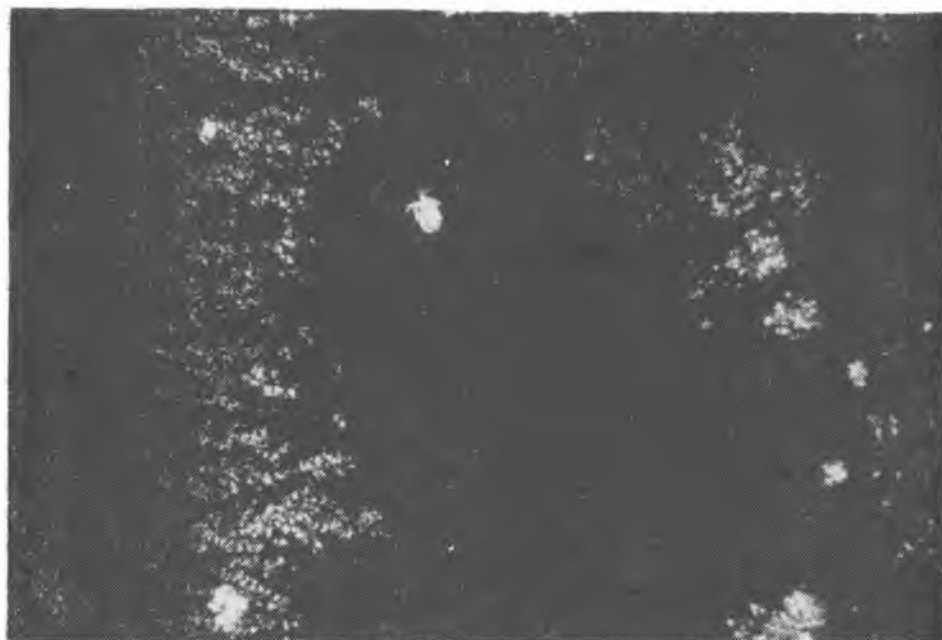
2. U szczurów (samic) starych występuje nierównomierne zmniejszenie się cholesterolu w poszczególnych warstwach kory nadnerczy. Najmniejszą ilość cholesterolu zawiera warstwa kłębkowata, nieco większą — warstwa pasmowata, a największą — warstwa siatkowata.

PIŚMIENNICTWO

1. Bloch K.: Biological Conversion of Cholesterol to Pregnanol. *J. Biol. Chem.* **157**, 661, 1945.
2. Borkowski A. J., Levin S.: Kinetic Studies of the Utilization of Plasma Cholesterol by the Adrenals in Man. 7 Symposium International de Bagdastein. 1966.
3. Botella Llusia J.: Nebenniere und Genitale. *Arch. Gynaek.* **183**, 73, 1953.
4. Givner M. Z. i wsp.: Effect of NY-9944 on Rat Adrenal Function. *Endocrinology* **81**, 976, 1967.
5. Margouliès M., Buret J.: Metabolisme du cholestérol et synthèse des stéroïdes hormonaux. A propos d'un cas d'hypocholesterolemie. *Rev. Med. Liège.* **20**, 509, 1968.
6. Miętkiewski K.: O zmianach sezonowych w gruczołach dokrewnych kretnów samców. *Folia Morph. (Warsz.)* **4a**, 1952.
7. Pearse A. G.: Histochemia teoretyczna i stosowana. PZWL, Warszawa 1957.
8. Reich E., Lehninger A. L.: Conversion of Cholesterol to Corticosteroids in Adrenal Homogenates. *Biochim. Biophys. Acta.* **17**, 136, 1955.
9. Smeer A. i wsp.: Étude de l'élimination urinaire de l'acide ascorbique et des corticoïdes surrenaux sous l'influence de l'administration de la vitamine C chez le rat. *Arch. Sci. Physiol. (Paris)* **22**, 547, 1968.
10. Stokoe W. M.: Observations on the Distribution of Birefringent Crystals in the Adrenal Gland of the Sheep. *Brit. Vet. J.* **114**, 12, 1958.
11. Williams R. H.: Endokrynologia. PZWL, Warszawa 1964.



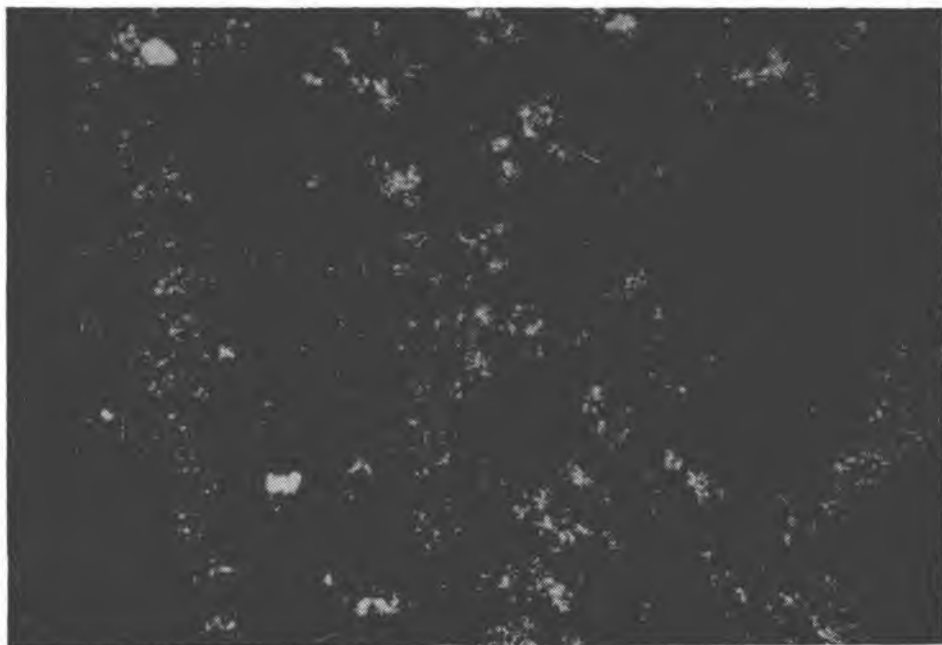
Ryc. 1



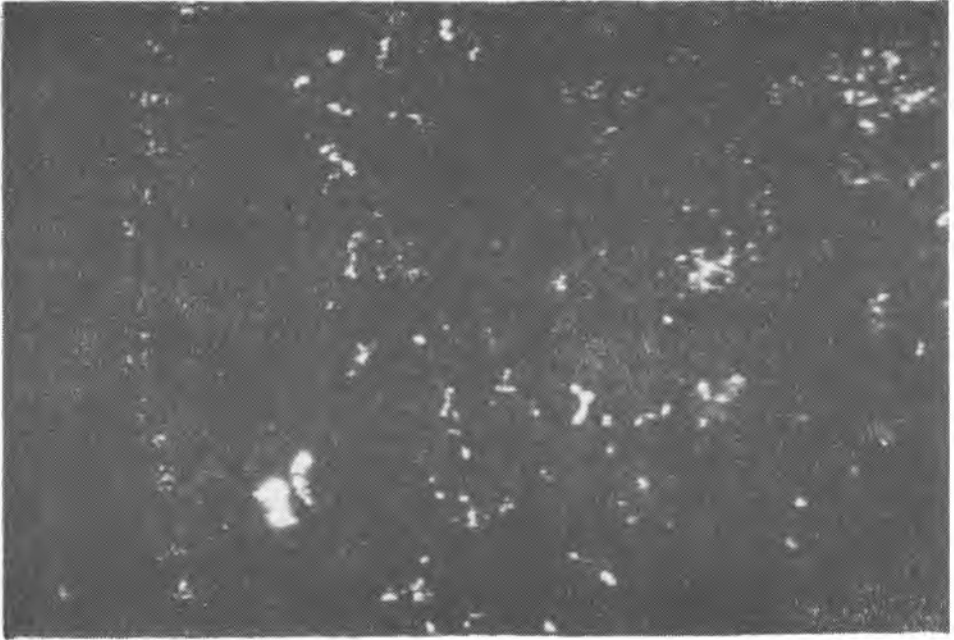
Ryc. 2



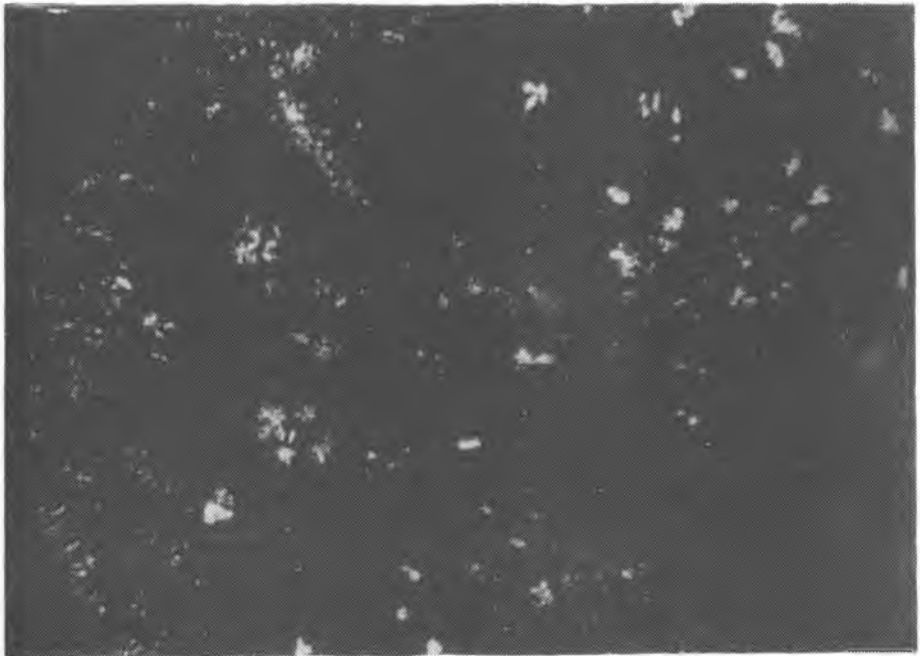
Ryc. 3



Ryc. 4



Ryc. 5



Ryc. 6



Ryc. 7

12. Zaffaroni A. i wsp.: Adrenal Conversion of ^{14}C Labelled Cholesterol and Acetate to Adrenal Cortical Hormones. *J. Amer. Chem. Soc.* **73**, 1390, 1951.

Otrzymano 20 VII 1981.

OPIS RYCN

Ryc. 1. Kora nadnercza szczura w wieku 6 mies. Warstwa kłębkowata zawiera drobne kryształki załamujące podwójne światło. Większe ilości kryształów i złogi kryształów widoczne w warstwie pasmowatej. Warstwa siatkowata w postaci ciemnego pola. Skąpe ilości kryształów w warstwie rdzennej. Mikroskop polaryzacyjny. Pow. ok. $75\times$.

Ryc. 2. Nadnercze szczura w wieku 6 mies. Liczne drobne kryształki w warstwie kłębkowatej. Liczne kryształki i złogi kryształów w warstwie pasmowatej. W warstwie siatkowatej widoczne ogniskowo kryształki. Mikroskop polaryzacyjny. Pow. ok. $75\times$.

Ryc. 3. Nadnercze szczura w wieku 6 mies. W warstwie pasmowatej nieregularnie rozmieszczone zespoły kryształów. Mikroskop polaryzacyjny. Pow. ok. $75\times$.

Ryc. 4. Nadnercze szczura w wieku 36 mies. Widoczna mała liczba kryształów załamujących światło. Między warstwami kłębkowatą i pasmowatą widoczny ciemny pas. Mikroskop polaryzacyjny. Pow. ok. $75\times$.

Ryc. 5. Nadnercze szczura w wieku 36 mies. Widoczna mała liczba kryształów anizotropowych. Na tle ciemnego pasa między warstwą kłębkowatą i pasmowatą pojedynczy zespół kryształów. Mikroskop polaryzacyjny. Pow. ok. $75\times$.

Ryc. 6. Nadnercze szczura w wieku 36 mies. Bardzo mała liczba kryształów anizotropowych. Zaznaczone przemieszczenie kryształów w kierunku warstwy siatkowatej i części rdzennej nadnercza. Mikroskop polaryzacyjny. Pow. ok. $75\times$.

Ryc. 7. Nadnercze szczura w wieku 36 mies. Zwraca uwagę mała liczba kryształów. Zaznaczony ciemny pas między warstwami kłębkowatą i pasmowatą. Stosunkowo dużo kryształów występuje w warstwie siatkowatej i rdzeniu nadnercza. Mikroskop polaryzacyjny. Pow. ok. $75\times$.

РЕЗЮМЕ

С целью выяснения функциональных изменений связанных с возрастом, беря во внимание участие холестерина в биологическом синтезе гормонов, гистохимическим методом исследовано содержание холестерина в надпочечных железах у 20 белых крыс (самок) в 6 месячном возрасте, а также у 20 крыс этой самой породы в 36 месячном возрасте. Полученные результаты были сравнены и установлено, что у старых животных количество холестерина в надпочечных железах ярко уменьшается, а его уменьшение неравномерно. Касается оно прежде всего, клубочного слоя, в меньшей степени лентовидного слоя, а в самой малой — сетчатого.

SUMMARY

The object of the paper was to evaluate some functional changes in the adrenal cortex of white female rats, in dependence to age. The contents of cholesterol in biosynthesis of steroid hormones were examined by histochemical methods in two experimental groups of white female rats aged 6 and 36 months, each group including 20 animals. The results of the examinations were compared. They showed that the amount of cholesterol in the adrenal cortex of the old rats considerably diminished to a various degree. The contents of cholesterol were found to gradually diminish in the order: the glomerular, fascicular and reticular strata.

EXPLANATION TO FIGURES

Fig. 1. The adrenal cortex of a rat aged 6 months. The glomerular stratum contains small crystals which refract double light. A higher quantity of crystals and their deposits are seen in the fascicular stratum. The reticular stratum is seen as a dark field. Low quantity of crystals in the medullary stratum. Polarizable microscope. Magn. ca. 75X.

Fig. 2. The adrenal cortex of a rat aged 6 months. Numerous small crystals in the glomerular stratum. Numerous crystals and their deposits in the fascicular stratum. Foci of crystals in the reticular stratum. Polarizable microscope. Magn. ca. 75X.

Fig. 3. The adrenal gland of a rat aged 6 months. Irregular distribution of crystals in the fascicular stratum. Polarizable microscope. Magn. ca. 75X.

Fig. 4. The adrenal gland of a rat aged 36 months. Small quantity of crystals. A conspicuous dark field is seen between the glomerular and the fascicular strata. Polarizable microscope. Magn. ca. 75X.

Fig. 5. The adrenal gland of a rat aged 36 months. Small number of anisotropic crystals. Aggregation of crystals between the glomerular and the fascicular strata against a dark field. Polarizable microscope. Magn. ca. 75X.

Fig. 6. Considerable replacement of crystals towards the reticular stratum and towards the medullary part of the adrenal gland. Polarizable microscope. Magn. ca. 75X.

Fig. 7. The adrenal gland of a rat aged 36 months with a small number of crystals. A dark field between the glomerular and fascicular strata. A large number of crystals in the reticular stratum and in the medullary part of the adrenal gland. Polarizable microscope. Magn. ca. 75X.