

Katedra i Zakład Histologii i Embriologii. Akademia Medyczna w Lublinie  
Kierownik: prof. dr hab. n. med. Irena Królikowska-Prasał

Alicja ZARĘBSKA

**Wpływ gonadektomii i podawania Mesteronu na komórki części  
zewnątrzwydzielniczej trzustki szczura białego**

Влияние гонадоктомии и применения Местерона на клетки наружносекторной части  
поджелудочной железы белой крысы

The Influence of Gonadectomy and Mesterone Treatment on Pancreas Exocrine Cells  
of White Rats

Obustronna gonadektomia w sposób istotny zaburza równowagę hormonalną, powodując przerwanie naturalnego sprzężenia zwrotnego między podwzgórzem, przysadką i gonadami. Znana jest podobna wrażliwość trzustki i gonad w przypadku działania niektórych czynników infekcyjnych (6).

Kliniczne objawy gonadektomii można łagodzić podawaniem syntetycznego związku androgennego — Mesteronu (Methyltestosterone: 17  $\beta$ -Hydroksy-17  $\alpha$ -metyloandrost-4-en-3-on) (5). W związku z tym postanowiono prześledzić zachowanie się komórek zewnątrzwydzielniczych trzustki po chirurgicznym obustronnym usunięciu gonad u dojrzałych płciowo samców szczurów białych, ponieważ wiadomo, że prawidłowa czynność obu części trzustki jest niezbędna dla organizmu. Jednocześnie powszechnie znany jest fakt reagowania przewodu pokarmowego w przypadku schorzeń innych narządów bądź przejściowego działania czynników stresowych na organizm.

**MATERIAŁ I METODYKA BADAŃ**

Doświadczenie przeprowadzono na szczurach-samcach rasy Wistar hodowli wsobnej o m.c. 300–350 g. Zwierzęta zostały podzielone na 2 grupy doświadczalne i 1 kontrolną, liczące po 5 zwierząt:

Grupa kontrolna — zwierzęta nie operowane, otrzymywały sondą codziennie rano przed karmieniem sól fizjologiczną.

Grupa I doświadczalna — zwierzęta po obustronnej gonadektomii, podobnie jak zwierzęta grupy kontrolnej otrzymywały sól fizjologiczną.

Grupa II doświadczalna — zwierzęta po obustronnej gonadektomii, otrzymywały przez 8 dni codziennie rano sondą przed karmieniem Mesteron firmy „Polfa” w dawce 2 mg/kg m.c. w postaci zawiesiny w soli fizjologicznej. Jednorazowo każde zwierzę otrzymało 0,7 mg Mesteronu, a łączna dawka dla każdego ze zwierząt wynosiła 6,3 mg. Podawanie preparatu rozpoczęto w 3 dni po operacji.

Obserwacjami klinicznymi nie stwierdzono ujemnego wpływu zastosowanej dawki na samopoczucie i zachowanie się zwierząt. Szczury były karmione standardową paszą granulowaną i miały pod dostatkiem wody do picia. Zabijano je przez usypianie eterem.

Na fragmentach trzustki wykonano następujące badania histologiczne, histochemiczne i morfometryczne: 1) przeglądowe barwienie hematoksyliną i eozyną; 2) barwienie kwasów nukleinowych gallocyjaniną według metody Einarsona; 3) oznaczanie aktywności fosfatazy zasadowej i kwaśnej według metody Gomoriego; 4) pomiary jąder komórkowych\*; 5) pomiary względnej ilości kwasów nukleinowych\*\*.

### WYNIKI BADAŃ

Po zastosowaniu przeglądowego barwienia hematoksyliną i eozyną w trzustce zwierząt grup I i II doświadczalnych nie stwierdzono zmian morfologicznych w porównaniu ze zwierzętami kontrolnymi.

Aktywność fosfatazy zasadowej nie różniła się w porównaniu z aktywnością enzymu w trzustce zwierząt kontrolnych, jedynie w błonach podstawnych pęcherzyków trzustkowych u zwierząt grupy I doświadczalnej była trochę słabsza.

Aktywność fosfatazy kwaśnej w częściach szczytowych komórek wielu pęcherzyków u zwierząt grupy I doświadczalnej była silniejsza niż u zwierząt kontrolnych. W grupie II doświadczalnej tylko w nielicznych pęcherzykach stwierdzono większą aktywność enzymu.

Powierzchnia przekroju jąder komórkowych po gonadektomii (grupa I dośw.) była większa o  $3,51 \mu^2$  w porównaniu z analogiczną powierzchnią zwierząt kontrolnych (tab. 1). Po podawaniu zwierzętom gonadektomizowanym Mesteronu obserwowano mniejszy wzrost powierzchni przekroju jąder ( $2,24 \mu^2$ ) aniżeli w grupie I doświadczalnej.

Względna zawartość kwasów nukleinowych w komórkach zewnątrzwydzielniczych prawie nie uległa zmianie u zwierząt gonadektomizowanych (tab. 2), natomiast wzrosła po podawaniu Mesteronu operowanym zwierzętom.

---

\* Stosując powiększenie  $1000 \times$  mierzono przy pomocy mikroskopu projekcyjnego najmniejszą i największą średnicę jądra, a następnie obliczano powierzchnię przekroju za pomocą wzorów:  $\pi r^2$  — na pole koła,  $\pi ab$  — na pole elipsy. Na skrawkach trzustki każdego ze zwierząt mierzono 100 jąder w losowo wybranych pęcherzykach. Następnie ustalano średnią powierzchnię przekroju jądra dla każdej grupy.

\*\* Na preparatach barwionych gallocyjaniną mierzono względną zawartość DNA i RNA przy pomocy histofotometru „Schnellphotometer III”. Wielkości pomiarów były odwrotnie proporcjonalne do ilości kwasów nukleinowych. Na skrawkach trzustki każdego ze zwierząt wykonano 100 pomiarów, a następnie ustalono średni pomiar dla każdej grupy.

Tab. 1. Powierzchnia przekroju jąder komórkowych w komórkach zewnątrzwydzielniczych ( $\mu^2$ )  
Surface of the section of cellular nuclei in exocrine cells ( $\mu^2$ )

Grupa kontrolna	Grupa I doświadczalna gonadektomia	Grupa II doświadczalna gonadektomia + Mesteron
14,59	18,10 + 3,51	16,83 + 2,24

Tab. 2. Względna zawartość kwasów nukleinowych w komórkach zewnątrzwydzielniczych  
Relative content of nucleic acids in exocrine cells

Grupa kontrolna	Grupa I doświadczalna gonadektomia	Grupa II doświadczalna gonadektomia + Mesteron
61,66	61,86 - 0,20	59,50 + 2,16

### DYSKUSJA

Prześledzenie zachowania się części zewnątrzwydzielniczej trzustki po obustronnej gonadektomii jest bardzo interesujące ze względów klinicznych. Przy zaburzonej homeostazie organizmu często spotykane są zaburzenia fizjologiczne ze strony przewodu pokarmowego, z którym trzustka pozostaje w ścisłej łączności. Oprócz wspólnego unaczynienia głowy trzustki z dwunastnicą posiada również liczne wieloneuronowe połączenia z żołądkiem i jelitami. W ten sposób bodźce mechaniczne lub chemiczne działające na śluzówkę żołądka i jelit wywołują odruchowe zmiany wydzielania trzustkowego za pośrednictwem odruchów żołądkowo-jelitowo-trzustkowych z udziałem lub bez nerwów błędnych lub współczulnych (3, 11). Ponadto trzustka posiada obfite unerwienie peptydergiczne. Włókna nerwowe wykazujące immunoreaktywne peptydy, zwłaszcza VIP (naczyniowy peptyd jelitowy) i GRP (peptyd uwalniający gastrynę), somatostatynę, enkefalinę, substancję P i inne wykazano w obrębie nerwów błędnych oraz w interneuronach splotów w mięszu gruczołu. Przypuszcza się, że neuropeptydy uwalniane na zakończeniach włókien peptydergicznych mogą modulować uwalnianie przywspółczulnych i współczulnych neuromediatorów, wpływać na działanie różnych hormonów regulujących czynności wydzielnicze trzustki lub działać wprost na komórki gruczołowe (3).

Obustronna gonadektomia powoduje u szczurów płci męskiej zmniejszenie fizjologicznego poziomu androgenów, których nadmiar, odpowiedzialny za adaptację organizmu do warunków stresowych, nie są w stanie zrekompenzować. Konsekwencją gonadektomii jest zwiększone wydzielanie gonadotropin (FSH i LH) przez przysadkę oraz hormonów uwalniających gonadotropiny (FSH-RH i LH-RH) przez podwzgórze. Pogłębia to jeszcze bardziej dysproporcje hormonalne, modulując na poziomie biochemicznym i ultrastrukturalnym

czynność wielu narządów (2, 7, 14). Jednym z gruczołów reagujących na brak oraz dodatkowe podawanie hormonów androgennych jest przyusznica szczura (12, 13). Ślinianka ta ma bardzo podobną budowę histologiczną do trzustki i podobną wrażliwość w stosunku do niektórych czynników infekcyjnych (6).

W przeprowadzonym doświadczeniu badania trzustki wykonano po krótkotrwałej, 11-dniowej, gonadektomii. Nie stwierdzono różnic morfologicznych w gruczole zwierząt doświadczalnych, które byłyby widoczne w mikroskopie świetlnym, w porównaniu ze zwierzętami kontrolnymi. Jednakże pomiary kariometryczne wykazały zwiększenie powierzchni przekroju jąder komórek zewnątrzwydzielniczych o  $3,51 \mu^2$ . Wzrost objętości jąder po gonadektomii obserwował także Malendowicz (7) w warstwie pasmowatej nadnerczy.

Odnosnie ilości kwasów nukleinowych w komórkach pęcherzykowych trzustki stwierdzono w przeprowadzonym doświadczeniu minimalne zmniejszenie ich ilości u zwierząt grupy I doświadczalnej w porównaniu ze zwierzętami kontrolnymi. Jest to związane ze zmniejszeniem się aktywności metabolicznej komórek i mniej intensywną wymianą między jądrem komórkowym i cytoplazmą jako jedną z przyczyn zwiększenia się objętości jąder komórkowych.

Badania histochemiczne również sugerują zmniejszenie się aktywności metabolicznej komórek surowiczych. Aktywność fosfatazy zasadowej zmniejszyła się w błonach podstawnych otaczających pęcherzyki trzustki i w błonach komórkowych komórek surowiczych. Ponieważ enzym spełnia ważną rolę przy rozkładzie estrów fosforanowych oraz transporcie przez błony (4), można przypuszczać, że procesy te w przypadku niedoboru androgenów uległy osłabieniu. Fosfataza kwaśna, przeciwnie do zasadowej, wykazywała w trzustce zwierząt gonadektomizowanych wzmoczenie aktywności w komórkach pęcherzykowych. Enzym ten, występujący w postaci izoenzymów w różnych komórkach, odgrywa ważną rolę w procesach wewnątrzkomórkowego trawienia i sekrecji (4, 8). Biorąc pod uwagę wszystkie badane parametry, można sądzić, że w komórkach zewnątrzwydzielniczych trzustki zwierząt grupy I doświadczalnej komórkowe procesy lityczne uległy wzmoczeniu.

Rozważając wpływ gonadektomii na trzustkę, należy uwzględnić przede wszystkim odpowiedź przysadki i nadnerczy na zastosowany zabieg operacyjny, a także ściśle współdziałanie hormonów androgennych z hormonem wzrostu i hormonami tarczycy w anabolicznym działaniu na organizm. Zmiany w interakcji hormonalnej mogą wpływać modulująco na aktywność enzymów wewnątrzkomórkowych oraz na procesy sekrecyjne komórek trzustki. Zwiększone wydzielanie kortykotropiny, co ma miejsce po gonadektomii, wywiera różny wpływ na wydzielanie trzustkowe. W przypadku człowieka bezpośredni wpływ kortykotropiny i kortykoidów odnosi się do redukcji podstawowego wydzielania, produkcji dwuwęglanów i amylazy (1), łącznie z brakiem odpowiedzi na sekretynę (9). Natomiast u psów obserwowano wzrost w produkcji

dwuwęglanów i enzymów (10). Także adrenalina redukuje poziom dwuwęglanów i sekrecję enzymów w odpowiedzi na sekretynę u mężczyzn i częściowo jest to uzależnione od zwężenia światła naczyń krwionośnych (9). Hormon wzrostu działa pobudzająco na wydzielanie trzustkowe i działanie to wiąże się z jego efektem troficznym na struktury układu trawiennego. Kalcytonina powoduje natomiast spadek sekrecji wodorowęglanów i białka pobudzanego sekretyną i cholecystokininą. Również hamujący wpływ na wydzielanie trzustkowe przypisuje się prostaglandynom PGE<sub>1</sub> i PGE<sub>2</sub> (3).

Znane są badania odnośnie ścisłej współzależności pomiędzy zewnątrz- i wewnątrzwydzielniczą czynnością trzustki (3). Krążenie krwi w trzustce wykazuje cechy krążenia wrotnego. Krew zaopatrując aparat wyspowy przepływa następnie przez włosniczki w części zewnątrzwydzielniczej. Insulina i glukagon docierają do tkanki gruczołowej trzustki w większym stężeniu niż do jakiegokolwiek innego narządu. Insulina stanowi silny bodziec pobudzający syntezę enzymów trzustkowych i wywiera działanie troficzne w stosunku do komórek zewnątrzwydzielniczych. U chorych z cukrzycą insulinozależną obserwuje się stopniowy zanik utkania zewnątrzwydzielniczego. W przeciwieństwie do insuliny glukagon wywiera działanie hamujące syntezę i wydzielanie enzymów, powodując degradację i zanik komórek zewnątrzwydzielniczych. Hamujący wpływ glukagonu dotyczy zarówno wydzielania enzymów, jak i wodorowęglanów. Uwalnianie insuliny i glukagonu zależy głównie od poziomu cukru we krwi, na który mają także wpływ hormony wydzielane przez nadnercza, a ponadto podlega wpływom ze strony takich hormonów, jak sekretyna, VIP (naczynioruchowy peptyd jelitowy), cholecystokinina, GIP (żołądkowy peptyd hamujący), enteroglukagon i gastryna. Szczególnie silne działanie insulino-tropowe wykazują GIP, VIP i enteroglukagon. Przypuszczalnie hormony żołądkowo-jelitowe pełnią funkcję sygnału „osi jelitowo-trzustkowej” uwalniania insuliny, gdy pokarm dostaje się do przewodu pokarmowego.

Dożołądkowe podawanie preparatów sterydowych wiąże się z częściową inaktywacją leku przed jego ogólnoustrojowym działaniem, jednocześnie także z mobilizacją wątroby, która bierze udział w inaktywacji hormonu, a także z modulacją wydzielania hormonów i enzymów żołądkowo-jelitowo-trzustkowych. Ponadto uzupełnienie hormonów androgennych hamuje zwiększone wydzielanie gonadotropin i kortykoidów nadnerczowych, przywracając organizmowi fizjologiczną i hormonalną homeostazę.

Po 8-dniowym podawaniu zwierzętom gonadektomizowanym Mesteronu stwierdzono częściowe cofnięcie się zmian obserwowanych w trzustce zwierząt grupy I doświadczalnej. Aktywność fosfatazy zasadowej była taka jak w trzustce zwierząt kontrolnych. Aktywność fosfatazy kwaśnej również, tylko w nielicznych pęcherzykach surowicznych była silniejsza. Średnia powierzchnia przekroju jąder komórkowych zmniejszyła się, chociaż była większa od kontrolnej o 2,24  $\mu^2$ . Prawdopodobnie dłuższe podawanie Mesteronu wpłynęłoby skuteczniej na

zmniejszenie objętości jąder komórkowych w kierunku poziomów kontrolnych. Zmniejszenie objętości jąder w komórkach kory nadnerczy po jednorazowym podaniu testosteronu kastrowanym szczurom-samcom obserwował Malendowicz (7).

Zwiększenie ilości kwasów nukleinowych w trzustce zwierząt grupy II doświadczalnej wskazuje na stymulujące działanie podawanego hormonu i jest również zgodne z obserwacjami dotyczącymi działania hormonów androgennych na przyusznicę (13).

### Wnioski

Obustronna gonadektomia powoduje po 11 dniach:

1) zwiększenie wielkości jąder w komórkach zewnątrzwydzielniczych trzustki;

2) zmniejszenie aktywności metabolicznej komórek zewnątrzwydzielniczych i wzmocnienie procesów litycznych.

Podawanie Mesteronu przez 8 dni zwierzętom gonadektomizowanym w dawce 2 mg/kg m.c. powoduje:

1) cofnięcie się zmian w aktywności fosfatazy kwaśnej i zasadowej;

2) mobilizację metaboliczną komórek zewnątrzwydzielniczych, której wraz z tym jest zwiększenie ilości kwasów nukleinowych.

### PIŚMIENICTWO

1. Dreiling D. A. i wsp.: Effect of ACTH and Adrenocortical Steroids on External Pancreatic Secretion in Man. *New Engl. J. Med.* **258**, 603, 1958.
2. Hammerschmidt R., Kugler P.: Peptidasen in der Niere männlicher Ratten nach Kastration und Testosteron-Substitution. *Z. mikrosk.-anat. Forsch., Leipzig* **98**, 137, 1984.
3. Konturek S.: Fiziologia układu trawiennego. Fizjologiczne podstawy gastroenterologii. PZWL, Warszawa 1985.
4. Krzyżanowska-Gruca S., Gruca S.: Fosfatazy. [w:] *Topochemiczne metody badań komórek i tkanek*. Red. Krygier-Stojałowska A., Godlewski H., PWN, Warszawa 1982, 627-646.
5. Kubikowski P., Kostowski W.: *Farmakologia. Podstawy farmakoterapii*. PZWL, Warszawa 1985.
6. Kubikowski P., Krotkiewski A.: *Vademecum*. PZWL, Warszawa 1985.
7. Malendowicz L. K.: Sex Differences in Adrenocortical Structure and Function. I. The Effect of Postpubertal Gonadectomy and Gonadal Hormone Replacement on Nuclear Volume of Adrenocortical Cells in the Rat. *Cell Tiss. Res.* **151**, 525, 1974.
8. Mihály A.: Light Microscopic Localization of Acid Phosphatase in Different Tissue Cells of the Albino Rat. *Z. mikrosk.-anat. Forsch., Leipzig* **94**, 774, 1980.
9. Pfeiffer R. B., Hinton J. W.: Some Relationships between Adrenal Medullary and Cortical Substances and Exocrine Function of the Pancreas in Man. *Gastroenterology* **31**, 746, 1956.

10. Sircus W.: The Effect of Corticotropin and Corticosteroids on the External Pancreatic Secretion of the Pancreas in Dogs. *Gut* **2**, 338, 1961.
11. Staszyc J., Królikowska-Prasał I.: Badania cytochemiczne trzustki po chirurgicznym przecięciu nerwów błędnych. *Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Lublin, Sectio D* **25**, 127, 1970.
12. Zarębska A.: The Effect of Testosterone on Secretory Segments of Rat Parotid Gland. *Folia Morphol. (Warsz.)* **40**, 97, 1981.
13. Zarębska A.: Wpływ testosteronu na morfologię jąder komórkowych i ilość kwasów nukleinowych w komórkach gruczołowych przyuszniczy szczura. *Endokr. Pol.* **33**, 151, 1982.
14. Zarębska A., Tochman A.: Ultrastructural Investigations of the Influence of Castration on Parotid Cells of the Rat. *Z. Mikrosk.-anat. Forsch., Leipzig* **99**, 717, 1985.

### РЕЗЮМЕ

Исследовано влияние гонадотомии и дополнительного лечения Местероном на наружносекреторную часть поджелудочной железы половозрелых крыс самцов породы Вистар. Одиннадцатидневная гонадотомия вызывает увеличение ядер, понижение метаболической активности и усиление литических процессов в железистых клетках. Восемидневное применение Местерона вызывает метаболическую мобилизацию клеток, которая проявляется увеличением количества нуклеиновых кислот.

### SUMMARY

The influence of gonadectomy and supplementary Mestosterone treatment on the pancreas exocrine part of sexually mature male rats of Wistar breed was investigated. 11-day gonadectomy caused the enlargement of nuclear sizes, diminution of metabolic activity and increase of litic processes in the secretion cells. 8-day Mestosterone administration caused the metabolic mobilization of cells visible in the increase of nucleic acid quantity.

