

## HISTOCHEMICZNA OCENA STERYDOGENEZY W NADNERCZACH ŚWINEK MORSKICH ZARAŻONYCH LARWAMI *ASCARIS SUUM* L.

WALDEMAR BIADUŃ i HALINA RUKASZ

Zakład Biologii i Parazytologii AM, Lublin

W poprzedniej pracy [3] badano aktywność wybranych enzymów i zawartość lipidów w korze nadnerczy świnek morskich zarażonych larwami *Ascaris suum*. Obserwowane zmiany pozwoliły stwierdzić, że podczas wędrówki larw występują zaburzenia czynnościowe komórek nadnerczy żywiciela. Należy przypuszczać, że wpływają one na przebieg sterydogenezy — głównego procesu zachodzącego w tym narządzie. Dlatego też podjęto próbę oceny syntezy sterydów w nadnerczach świnek morskich w toku inwazji larw *A. suum*.

### Material i metody

Badania przeprowadzono na 45 samcach świnek morskich o masie ciała  $300 \pm 50$  g. Zwierzęta utrzymywane w identycznych warunkach i na identycznej diecie, podzielono na dwie grupy: doświadczalną — 35 i kontrolną — 10 sztuk. Zwierzęta doświadczalne zarażano dawką 3000 jaj inwazyjnych glisty świńskiej. Nadnercza do badań histochemicznych pobierano od zwierząt sekcjonowanych w 1, 2, 4, 7 i 20 dniu po zarażeniu (dpz). Jednocześnie pobierano materiał od zwierząt kontrolnych. Reakcje histochemiczne na cholesterol i kortykoidy wykonywano na skrawkach utrwalonych w 10% zubożonej formalinie i krojonych na mikrotomie mrozeniowym. Aktywność dehydrogenazy 11-beta-hydroksysterydowej oznaczano na skrawkach nieutrwalonych, krojonych w kriostacie Peasea. Cholesterol wykrywano metodą Schultza, kortykoidy metodą Khanolkara i wsp. w modyfikacji Penar, a dehydrogenazę 11-beta-hydroksysterydową — wg Baillie i wsp. [7].

### Wyniki badań

#### Cholesterol

Reakcja Schultza na cholesterol u zwierząt kontrolnych zlokalizowana była w całej korze nadnerczy. Intensywną reakcję obserwowano w warstwie kłębkowatej i pasmowatej, słabszą — w siatkowatej (ryc. 1). W

1 i 2 dpz reakcja na cholesterol w wszystkich warstwach kory była słabsza aniżeli u zwierząt kontrolnych (ryc. 2). W 4 dniu inwazji obserwowano wzmożenie odczynu, szczególnie w warstwie kłębkowatej i zewnętrznej części warstwy pasmowatej (ryc. 3). W 7 i 20 dpz rozmieszczenie i intensywność reakcji były takie same jak u zwierząt grupy kontrolnej.

#### Kortykoidy

U zwierząt kontrolnych reakcja na kortykoidy występowała we wszystkich warstwach kory nadnerczy. Najbardziej intensywny odczyn stwierdzono w komórkach warstwy pasmowatej (ryc. 4). U zwierząt doświadczalnych w miarę trwania inwazji obserwowano stopniowe osłabienie reakcji na kortykoidy we wszystkich warstwach kory (ryc. 5, 6). W 20 dniu odczyn był taki sam jak u zwierząt kontrolnych.

Ryc. 1. Nadnercza świnki morskiej z grupy kontrolnej. Reakcja na cholesterol. Pow. ok. 160 ×

Fig. 1. The adrenal gland of control guinea pig. Reaction to cholesterol. Magn. ca 160 ×

Ryc. 2. Nadnercza świnki morskiej 1 dpz. Spadek reakcji na cholesterol w warstwie pasmowatej. Pow. ok. 160 ×

Fig. 2. The adrenal gland of guinea pig — 1 day after infection. A decrease of reaction to cholesterol in the fascicular zone. Magn. ca 160 ×

Ryc. 3. Nadnercza świnki morskiej w 4 dniu inwazji. Wzrost reakcji na cholesterol (gł. w warstwie pasmowatej). Pow. ok. 160 ×

Fig. 3. The adrenal of guinea pig — 4 days after infection. An increase of reaction to cholesterol (in the fascicular zone mainly). Magn. ca 160 ×

Ryc. 4. Nadnercza świnki morskiej kontrolnej. Reakcja na kortykoidy. Pow. ok. 160 ×

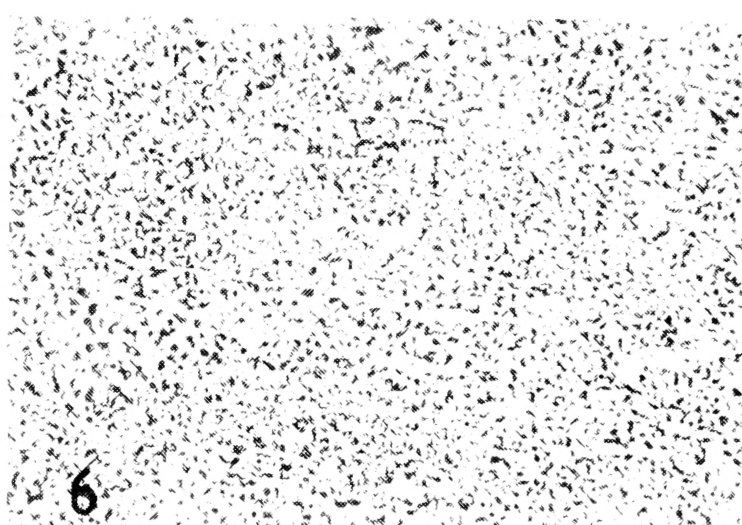
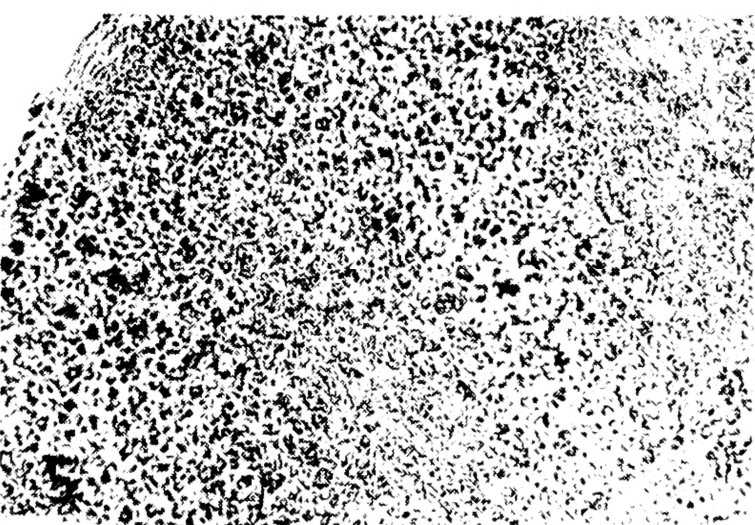
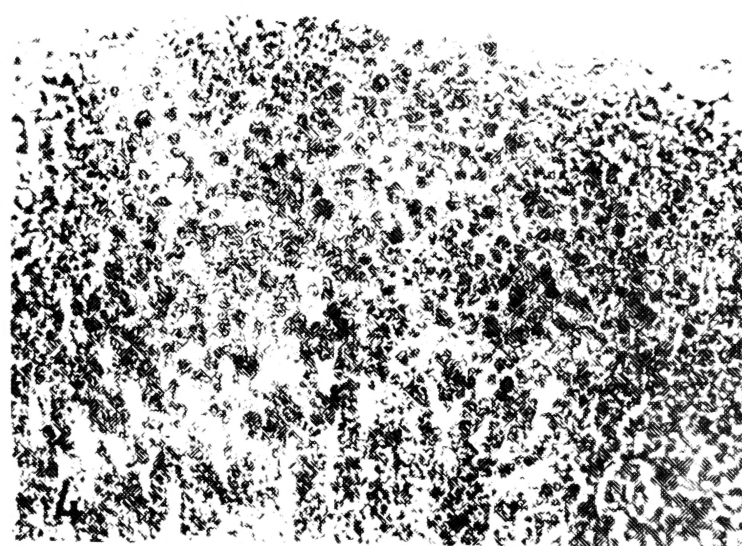
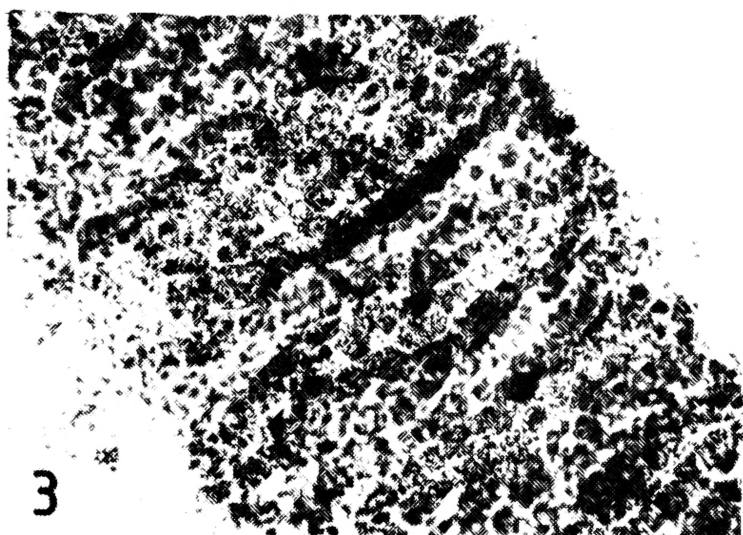
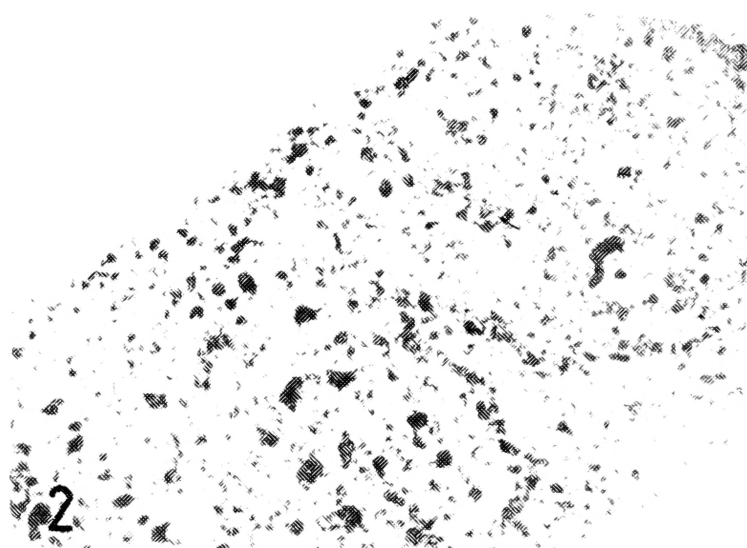
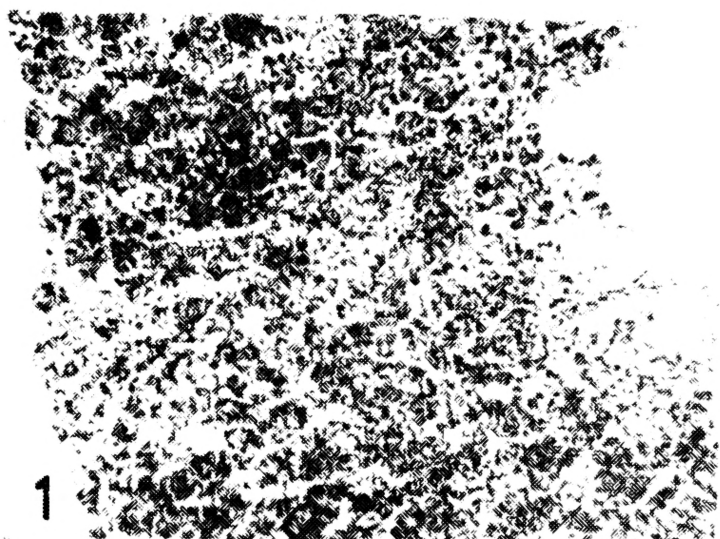
Fig. 4. The adrenal gland of control guinea pig. The reaction to corticoides. Magn. ca 160 ×

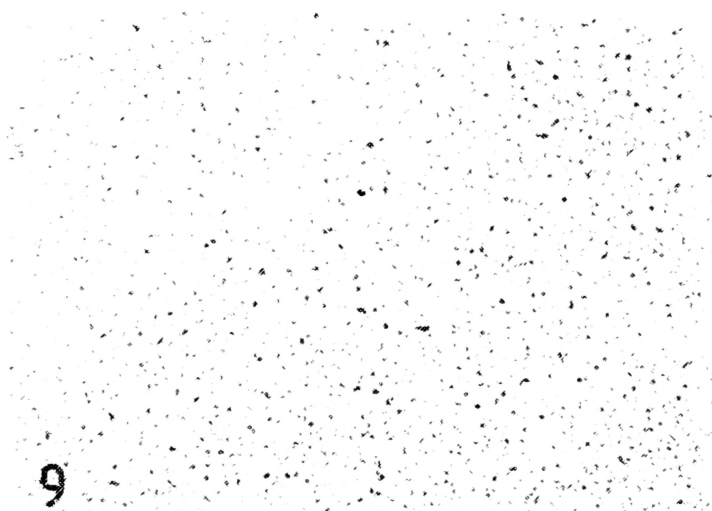
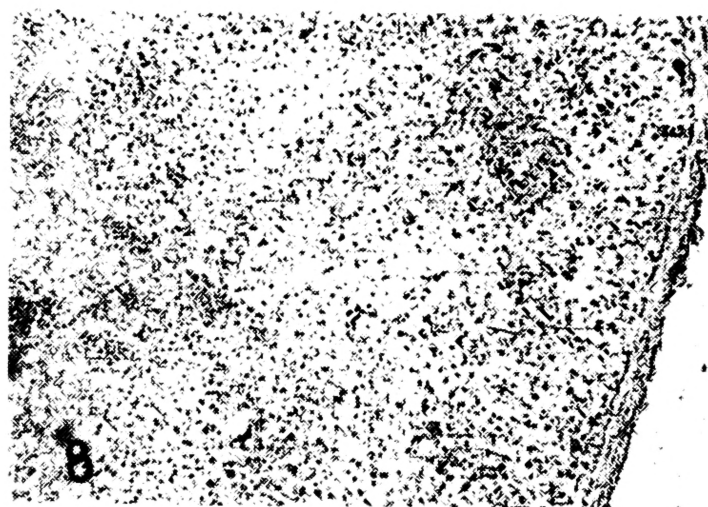
Ryc. 5. Nadnercza świnki morskiej 1 dpz. Spadek reakcji na kortykoidy we wszystkich warstwach kory nadnerczy. Pow. ok. 160 ×

Fig. 5. The adrenal gland of guinea pig — 1 day after infection. A decrease of reaction to corticoids in all zones. Magn. ca 160 ×

Ryc. 6. Nadnercza świnki morskiej 7 dnia po zarażeniu. Śladowa reakcja na kortykoidy w warstwie pasmowatej. Pow. ok. 160 ×

Fig. 6. The adrenal gland of guinea pig — 7 days after infection. The trace reaction to corticoids in fascicular zone. Magn. ca 160 ×





Ryc. 7. Nadnercza świnki morskiej z grupy kontrolnej. Odczyn na aktywność dehydrogenazy 11-beta-hydroksysterydowej. Pow. ok. 160 ×

Fig. 7. The adrenal gland of control guinea pig. Reaction to hydroxysteroid-11-beta-dehydrogenase. Magn. ca 160 ×

Ryc. 8. Nadnercza świnki morskiej 1 dnia po zarażeniu. Wzrost aktywności dehydrogenazy 11-beta-hydroksysterydowej we wszystkich warstwach kory nadnerczy. Pow. ok. 160 ×

Fig. 8. The adrenal gland of guinea pig — 1 day after infection. An increase of the hydroxysteroid-11-beta-dehydrogenase activity in all zones. Magn. ca 160 ×

Ryc. 9. Nadnercza świnki morskiej w 4 dpz. Spadek aktywności dehydrogenazy 11-beta-hydroksysterydowej w warstwie pasmowatej. Pow. ok. 160 ×

Fig. 9. The adrenal gland of guinea pig — 4 days after infection. A decrease of the dehydrogenase-11-beta-hydroxysteroid activity in the fascicular zone. Magn. ca 160 ×



## Dehydrogenaza 11-beta-hydroksysterydowa

U zwierząt kontrolnych, dehydrogenaza 11-beta-hydroksysterydowa zlokalizowana była we wszystkich warstwach kory nadnerczy. Drobne ziarna formazanu świadczące o aktywności enzymu obserwowano w cytoplazmie komórek warstwy kłębkowatej i pasmowatej. W miarę zbliżania się do warstwy siatkowatej reakcja słabła (ryc. 7). W 1 i 2 dniu odnotowano wzmożenie aktywności enzymu w warstwie pasmowatej (ryc. 8). W 4, 7 i 20 dpz reakcja we wszystkich warstwach kory nadnerczy była słabsza (ryc. 9).

## Dyskusja

Badania zawartości cholesterolu i kortykoidów oraz aktywności dehydrogenaz hydroksysterydowych są podstawowymi wskaźnikami sterydogenezy w korze nadnerczy [2, 6, 7, 8, 13, 15].

W korze nadnerczy cholesterol i jego estry występują w postaci kropeł lipidowych rozmieszczonych w cytoplazmie komórek (cyt. za 9). O ich poziomie w komórkach decyduje ACTH kontrolujący transformację cholesterolu do pregnenolonu, który jest prekursorem wszystkich hormonów sterydowych. Hormon kortykotropowy przyspiesza ponadto syntezę cholesterolu i wychwytywanie go z krwiobiegu oraz zwiększa hydrolizę estrów cholesterolu [1, 4, 10, 12]. Wzrost wydzielania ACTH wywołuje spadek stężenia cholesterolu w korze nadnerczy [4, 8, 12, 15]. Sytuacje stresowe, do których należy także inwazja pasożyta, wywołują podobny efekt [2, 13, 17]. Obserwowany w doświadczeniu początkowy spadek cholesterolu w korze nadnerczy może świadczyć o zwiększonej sterydogenezie. Wzrost w 4 dpz jest trudny do interpretacji. Można go przypisać zwiększonemu wychwytywaniu cholesterolu z krwiobiegu, bądź też wzmożeniu syntezy. Jak już wspomniano obydwie procesy są także zależne od poziomu ACTH. Podobne zjawiska obserwowano w innych badaniach gdzie mimo działania ACTH lub stresorów stwierdzano stosunkowo szybki powrót cholesterolu lub lipidów do stanu wyjściowego [4, 10, 11]. Malendowicz [9] uważa, że stwierdzany wzrost czy spadek lipidów w różnych warunkach jest często tylko zjawiskiem względnym, wynikającym ze zmiany objętości komórki.

Kortykoidy pełniące zasadniczą funkcję w regulacji metabolicznej organizmu są w sytuacji stresowej syntetyzowane w ilościach wielokrotnie przewyższających wartości prawidłowe. Ponieważ są natychmiast uwalniane do krwiobiegu, ich zawartość w korze nadnerczy maleje. Proces ten obserwowano zarówno przy podawaniu ACTH, jak i działaniu stresorów [2, 6, 8, 13]. Przez cały okres wędrówki larw glisty obserwowano w korze nadnerczy stopniowy spadek zawartości kortykoidów. Jest to prawdopodobnie efektem wzmożonego zapotrzebowania organizmu na hormony sterydowe w trakcie inwazji. Należy brać także pod uwagę moż-

liwość pewnego zahamowania sterydogenezy w późniejszym okresie inwazji. Fortak [2] w późnym okresie uczulenia świnek morskich obcym białkiem obserwował śladową reakcję na kortykoidy, co tłumaczy bardzo znacznym osłabieniem czynności hormonalnej nadnerczy.

Dehydrogenazy hydroksysterydów są, obok hydroksylaz sterydowych, podstawową grupą enzymów uczestniczących w sterydogenezie. Zmiany ich aktywności świadczą bezpośrednio o natężeniu procesów syntezy hormonów sterydowych [7, 9, 15]. Wzrost aktywności dehydrogenazy 11-beta-hydroksysterydowej w korze nadnerczy w początkowym okresie zarażenia świadczy o wyraźnym nasileniu przemian sterydów. Spadek następujący w dalszych dniach inwazji wskazuje natomiast na ich zahamowanie. Podobne wyniki otrzymano dla dehydrogenaz cytoplazmatycznych w trakcie podawania ACTH [14].

Interpretację otrzymanych wyników utrudnia specyficzny sposób działania kortykotropiny. ACTH indukuje bowiem jednocześnie i sterydogenezę, i procesy wzrostowe komórek kory nadnerczy. Przy krótkotrwałej stymulacji kory wywołuje tzw. efekt tropowy, polegający na zwiększeniu biosyntezy i sekrecji sterydów. Działając dłużej daje z kolei efekt trofowy, wiążący się ze wzrostem indeksu mitotycznego komórek kory nadnercza [5, 9]. Prawdopodobnie w trakcie inwazji larw *A. suum* okres wzmożonego wydzielania ACTH jest tak długi jak wędrówka pasożyta i obydwie efekty nakładają się na siebie. Świadczyć o tym może obserwowana także w inwazjach pasożytniczych hipertrofia kory nadnerczy [16].

Należy zatem przyjąć, że w początkowym okresie inwazji sterydogeneza jest nasilona. Potem proces syntezy sterydów ulega pewnemu zahamowaniu. Obserwowane w poprzednich badaniach [3] pobudzenie czynności komórek kory nadnerczy w późniejszym okresie wędrówki larw jest więc prawdopodobnie związane z rozpoczynającym się procesem ich przerostu.

Otrzymano: 14 VIII 1984

Adres autorów:  
20-081 Lublin, ul. Staszica 4

#### LITERATURA

1. Dexter, R. N., Fishman, L. M., Ney, R. L., Liddle, G. W.: An effect of adrenocorticotrophic hormone on adrenal cholesterol accumulation. — *Endocrinology*, 81, 1185 - 1187, 1967.
2. Fortak, W.: Badania morfologiczne i histochemiczne nadnerczy w przebiegu uczulenia świnek morskich obcogatunkowym białkiem. — *Endokrynol. Pol.*, 16, 457 - 473, 1965.
3. Jarnicka-Stanios, H., Rukasz, H., Biaduń, W.: Badania histochemiczne kory nadnerczy świnek morskich w przebiegu glistnicy larwalnej — *Wiad. Parazytol.*, 30, 283 - 289, 1984.

4. Judajew, N. A., Kriechowa, M. A., Czechranowa, M. K.: O wlijanii AKTG na sodierzanije choliesterina i jowo efirow w nadpoczecznikach kryś i krolikow. — *Probl. Endokrinot.*, 18, 80 - 85, 1972.
5. Kirillow, O. I.: Klietocznyje izmienienija w korie nadpoczecznikow pri powtornom wwiedienii AKTG. — *Probl. Endokrinot.*, 19, 99 - 101, 1973.
6. Kolanowski, I., Pizarro, M. A., Crabbé, I., Sayers, G.: A lasting effect of ACTH on adrenocortical steroidogenesis: in vivo and in vitro studies on guinea pig. — *Acta endocrinol.*, 73, Suppl., 177, 86, 1973.
7. Krygier-Stojałowska, A., Godlewski, H. (red.): Topochemiczne metody badań komórek i tkanek. — PWN, Warszawa 1982.
8. Kurczenko, I. F.: K mechanizmu diejstwija AKTG na koru nadpoczecznikow. — *Biul. Eksperim. Biol. Med.*, 77, 109 - 112, 1974.
9. Malendowicz, K. L.: Zróźnicowanie ultrastrukturalne i czynnościowe komórek kory nadnercza. — w: „Ultrastruktura i funkcja komórki”, t. 2, 140 - 232, PWN, Warszawa 1982.
10. Malendowicz, K. L., Trzeciak, W., H.: Rola ACTH w regulacji metabolizmu cholesterolu w korze nadnerczy. — *Endokrynol. Pol.*, 25, 61 - 81, 1974.
11. Miętkiewski, K., Basińska, H., Łukaszyk, A.: Histofizjologia kory nadnercza szczura w przebiegu doświadczonego zakażenia otrzewnej. — *Endokrynol. Pol.*, 19, 399 - 410, 1968.
12. Shima, S., Mitsunaga, M., Nakao, T.: Effect of ACTH on cholesterol dynamics in rat adrenal tissue. — *Endocrinology*, 90, 808 - 814, 1972.
13. Sokołow, W. I.: O reakcii kory nadpoczecznikow intaktnych i kastruirowanych grizunow na formalinowyj stress. — *Ż. ewoluc. bioch. fizjol.*, 10, 171 - 175, 1974.
14. Szorin, I. P., Szerszniew, W. N., Jakobson, G. S.: Aktywnost citoplazmaticzeskich degidrogenaz nadpoczecznikow pri dlitelnom wwiedienii AKTG. — *Biul. Eksperim. Biol. Med.*, 81, 173 - 175, 1976.
15. Tkaczewa, G. A.: Morfołogiczeskije aspiekty problimy gipofizarnoj regulacji kluboczkowej zony nadpoczecznika. I. Reakcija glomeruliarnych klietok na AKTG i gipofizektomiju. — *Probl. Endokrinot.*, 19, 87 - 91, 1973.
16. Zembruski, K.: Niektóre wskaźniki narządowe w przebiegu doświadczonej glistnicy. II. Śledziona i nadnercza świnki morskiej zarażonej doświadczone glistą świńską (*Ascaris lumbricoides suis*). — *Wiad. Parazytol.*, 20, 823 - 828, 1974.
17. Ziolo, T.: Obserwacje histochemiczne nad rozmieszczeniem cholesterolu i witaminy C w korze nadnerczy owiec z marskością wątroby wywołaną motylicą wątrobową. — *Med. Wet.*, 16, 646 - 652, 1960.

HISTOCHEMICAL DETERMINATION OF STEROIDOGENESIS IN THE  
ADRENAL GLANDS OF GUINEA PIGS INFECTED WITH *ASCARIS SUUM*  
LARVAE

by

W. BIADUŃ and H. RUKASZ

The studies were carried out with 45 female guinea pigs weighting  $300 \pm 50$  g. The experimental animals were infected with 3000 invasive eggs of *Ascaris suum*. On the 1-st, 2-nd, 4-th, 7-th and 20-th day after infection the animals were sacrifi-

ced and their adrenal glands were collected for histochemical studies. At the same time material from control animals was collected. In adrenal gland slices histochemical reaction for cholesterol (Schultz's method), corticoids (Khanolkar's method in Penar's modification) and hydroxysteroid-11-beta-dehydrogenase (according to Baillie) were performed.

The histochemical examinations showed a decrease in the reaction to cholesterol on the 1-st and 2-nd day after infection. On the 4-th day an increase of cholesterol reaction was observed, but on the 7-th and 20-th day it did not change, as compared with the control group. A decrease of the reaction to corticoids in the adrenal cortex of the experimental animals was observed during the whole time of *Ascaris* larvae migration. The activity of hydroxysteroid-11-beta-dehydrogenase in the adrenal cortex of the animals infected increased on the 1-st and 2-nd day after infection, but on the 4-th day of infection a decrease was noted. On the basis of results obtained the authors conclude that steroidogenesis was more intensive in the initial phase of infection, after which its inhibition occurred.