

Irena KRÓLIKOWSKA-PRASAŁ

**Badania histochemiczne komórek wątrobowych szczurów
po gonadektomii**

Гистохимические исследования клеток печени после гонадэктомии

Histochemical Studies of Hepatic Cells in Rats after Gonadectomy

Wpływ gonadektomii na wzrost wagi wątroby jest opisany przez Bera (1957). Kochakian i Harrison (1962) zwracają uwagę, że u zwierząt kastrowanych obniża się waga wątroby z jednoczesnym zmniejszeniem ilości RNA w cytoplazmie komórkowej, przy czym poziom białek i aminokwasów maleje proporcjonalnie do wagi narządu. Achtelik i Gruca (1962) podkreślają, że androgeny powodują wzrost RNA przy wzroście liczby jąderek i ich pyroninochłonności, zaś Limanowski i Brzeziński (1966), przeprowadzając niektóre odczyny histochemiczne w wątrobie zwierząt trzebionych i po podaniu testosteronu, stwierdzają u zwierząt kastrowanych zmniejszenie się odczynu RNA i aktywności fosfatazy kwaśnej oraz DNA-azy i ponowny wzrost po otrzymaniu androgeny. Wiadome jest również, że wątroba jest miejscem unieczynniana hormonów, gdzie testosteron ulega przekształceniu w 17-ketosterydy, które są wydalane z moczem (Charvat — 1953, Fischer — 1959, Grayhack i Scott — 1951).

Mechanizm działania hormonów sterydowych nie jest dostatecznie poznany. Nie wszystkie androgeny działają w jednakowy sposób, a ich czynność hormonalna jest określana zatrzymaniem azotu w ustroju. Szczególnie wyraźne działanie obserwowano w przypadku podawania propionianu testosteronu oraz metylo-testosteronu, które posiadają anaboliczny wpływ na przemianę białkową (Wilson — 1962), a poza tym metylo-testosteron bierze prawdopodobnie udział w procesach metylacji, podobnie jak metionina. Znane jest również działanie metylo-testosteronu na gruczoł śródmiąższowy jądra, powodujące jego rozrost dzięki szybkiemu rozmnażaniu komórek Leydiga (Dadlez i Kubikowski — 1959). Ostatnio w literaturze pojawia się coraz większa liczba doniesień na temat nieprawidłowej funkcji wątroby po podaniu anabolicznych steroidów (Kory i wsp. — 1959). Wśród nich zwrócono uwagę na metylo-testosteron, który według danych Carmichael i wsp. (1963) powoduje zatrzymanie barwników żółci (bromosulfofaleiny), wpływa na aktywność transaminazy oraz obniżenia stężenia lipidów w surowicy (Furman i wsp. 1958). Werner i wsp. (1950) zauważyli, że me-

tylotestosteron powoduje zastój żółci wewnątrz kanalików żółciowych. Mechanizm steroidów gonadowych zmienia także metabolizm tłuszczów i ich transport, co może być interesujące z punktu widzenia klinicznego.

Mimo szeregu prac zagadnienie wpływu gonadektomii na tkankę wątrobową pozostaje nadal zagadnieniem ciekawym i upoważniającym do podjęcia w tym kierunku szczegółowych rozważań. Dlatego postanowiono zająć się tym tematem przy zastosowaniu metod histologicznych i histochemicznych. Celem pracy była analiza komórek wątrobowych zwierząt po obustronnej gonadektomii i po podaniu podskórnym kastratom i niekastrom oleistego roztworu metylotestosteronu.

MATERIAŁ I METODYKA BADAŃ

Badania przeprowadzono na samcach szczurów białych (174 szt.) hodowli własnej. Wiek zwierząt wahał się w granicach od 8 do 10 miesięcy, waga ich wynosiła 250—280 g. W okresie doświadczenia zwierzęta przebywały w jednakowych pomieszczeniach (światło dzienne, temp. około 18°C). Karmione były paszą granulowaną, chlebem i mlekiem jeden raz dziennie o stałej porze.

Użyte do badań zwierzęta stanowiły 3 grupy doświadczalne i 1 grupę kontrolną.

Grupa I dośw. Zwierzęta kastrowane, które zabijano w 2 tygodnie, 1 miesiąc i 3 miesiące po operacji (45 szt.).

Grupa II dośw. Zwierzęta kastrowane, którym, począwszy od 3 dnia po zabiegu, podawano podskórnie oleisty roztwór metylotestosteronu 2 razy tygodniowo po 5 mg na zwierzę przez okres 2 tygodni (łączna dawka 20 mg), 1 miesiąca (całkowita dawka 45 mg) i 3 miesięcy (łączna dawka 125 mg) (45 szt.).

Grupa III dośw. Zwierzęta nie kastrowane, które otrzymywały 2 razy tygodniowo po 5 mg metylotestosteronu przez 2 tygodnie (łączna dawka 20 mg), 1 miesiąc (ogólna dawka 45 mg) i 3 miesięcy (łączna dawka 125 mg) (43 szt.).

Grupa kontrolna: a) obejmująca zdrowe samce, b) grupa kontrolna, w której zwierzętom wstrzykiwano podskórną dwa razy tygodniowo po 1 ml oleju celem wyeliminowania wpływu użytego rozpuszczalnika hormonu, c) zwierzęta, którym dokonywano pozornej operacji (przecinano i zeszywano skórę moszny (43 szt.).

Obustronną gonadektomię zwierząt przeprowadzano w lekkiej narkozie eterowej, podwiązując jednocześnie naczynia i nasieniowody, następnie ranę zszywano warstwowo. Ze względu na zmiany dobowe, jak również sezonowe w gruczołach płciowych, zabieg operacyjny był wykonywany zawsze między godziną 9—11 w styczniu i lutym w latach 1966—1968. Spośród wszystkich operowanych szczurów 2 padły — jeden w dniu zabiegu, drugi po kilku dniach.

Przed doświadczeniem szczury ważono. Dekapitowano je w 48 godzin po ostatnim podaniu metylotestosteronu i około 15 godzin po karmieniu.

Do badań tkanki wątrobowej zwierząt kontrolnych i doświadczalnych zastosowano metody histologiczne i histochemiczne. Zwierzęta doświadczalne grup I—III dekapitowano po 2 tygodniach, 1 i 3 miesiącach, tak samo postępowano z grupą kontrolną (a, b, c). Wycinki z prawego płata wątroby utrwalano w następujących utrwalaczach: 10% formalinie, płynach Bakera, Gendre'a i Carnoya w zależności od wymagań stosowanej metody. Nie utrwalone wycinki wątroby przeznaczone do badań cytoenzymatycznych natychmiast krajano w kriostacie, natomiast po 24-godzinnym utrwalaniu w płynie Bakera krajano na mikrotomie mrozeniowym na skrawki grubości 10 μ m. Pozostałe wycinki po odpowiednim utrwaleniu były odwadniane, prześwietlane i zatapiane w parafinie. Do badań zastosowano następujące metody: 1) Barwienie hematoksyliną Mayera i eozyną, 2) Metoda Feulgena na

kwas DNA, 3) Metoda Bracheta do wykazania RNA i DNA, 4) Metoda PAS na glikogen wg McManusa (Pearse — 1960). Skrawki kontrolne umieszczano w 5% roztworze alkoholowym dimedonu na 2 godz. w temp. 60°C (Bulmer — 1962). Wykonywano również trawienie 1% roztworem diastazy w temperaturze pokojowej w ciągu 2 godz. 5) Barwienie lipidów sudanem czarnym B wg Pearse. 6) Barwienie lipidów obojętnych czerwieńią tłuszczową 7B wg Pearse. 7) Barwienie na mukopolisacharydy kwaśne błękitem alcjanowym. 8) Odczyn na fosfatazę kwaśną wg Gomoriego (1953). 9) Odczyn na fosfatazę kwaśną z zastosowaniem metody sprzęgania soli dwuazowych wg Pearse. 10) Odczyn na fosfatazę zasadową wg metody Gomoriego. 11) Odczyn na fosfatazę zasadową, stosując metodę sprzęgania z solami dwuazowymi wg Pearse. 12) Odczyn na ATP-azę wg metody Wachstein i Meisel (1957). 13) Odczyn na 5-N wg metody Wachstein i Meisel (1957). 14) Odczyn na pirofosfatazę tiaminową (TPP-azę) wg metody Novikoffa i Goldfischera (1961). 15) Odczyn na esterazę niespecyficzną (N—E) wg Pearse (1960). 16) Odczyn na glikozo-6-fosfatazę (G-6-P-aza) wg Wachstein i Meisel (1956). 17) Odczyn na dehydrogenazę bursztynianową z nitro -BT wg Nachlasa.

WYNIKI BADAŃ WŁASNYCH

Preparaty przeglądowe wątroby szczurów doświadczalnych barwione hematoksyliną i eozyną nie wykazały istotnych różnic w porównaniu z obrazami grupy kontrolnej. Zwrócono jedynie uwagę na wzrost liczby jąderek w hepatocytach zwierząt, którym podawano metylotestosteron (grupa III dośw.).

Kwas rybonukleinowy (RNA)

Grupa kontrolna. W komórkach wątrobowych wszystkich stref zrazika substancja pyroninochłonna rozmieszczona jest równomiernie w całej cytoplazmie pod postacią drobnych grudek. Większe skupienia substancji pyroninochłonnej spotyka się w pobliżu jądra komórkowego. W samym jądrze odczyn na RNA lokalizuje się w jąderkach, których zwykle jest 1 lub 2, a w nielicznych jądrach znajduje się ich 3 lub więcej (ryc. 1).

Grupa I dośw. W wątrobie zwierząt kastrowanych widoczny jest słaby odczyn w cytoplazmie komórkowej. Zmniejsza się również liczba jąderek. Jądra komórkowe posiadają przeważnie jedno jąderko, rzadziej dwa, ale wówczas są małe, a tylko wyjątkowo spotyka się ich więcej (ryc. 2). Tego rodzaju zmiany szczególnie wyraźnie są zaznaczone w hepatocytach środkowej i pośredniej strefy zrazika w mniejszym stopniu w strefie obwodowej. Obrazy podobne obserwowane są w wątrobie zwierząt w 2 tygodnie i 1 miesiącu po kastracji. Natomiast w późniejszym okresie, tj. w 3 miesiące pyroninochłonność cytoplazmy, a także jąderek wzrasta, lecz nie dorównuje swą intensywności odczynom wątroby szczurów kontrolnych.

Grupa II dośw. Podawanie metylotestosteronu szczurom kastrowanym przez okres 2 tygodni i 1 miesiąca nie posiada wyraźnego wpływu na

odczyn RNA w cytoplazmie i jąderkach hepatocytów. Natomiast po 3 miesiącach otrzymywania hormonu obserwuje się w jednych komórkach jeszcze dość słabą pyroninochłonność cytoplazmy, w innych leżących obok jest ona bardzo wyraźna, podobna a nawet wyższa niż w komórkach wątrobowych szczurów kontrolnych.

Grupa III dośw. W wątrobie zwierząt nie kastrowanych, które otrzymywały metylolestosteron, w cytoplazmie komórek mięszszowych odczyn RNA występuje pod postacią drobnych, zwłaszcza zbitych skupień w całej cytoplazmie, a przede wszystkim w pobliżu błony jądrowej. Nasilenie odczynu wzrasta w porównaniu z kontrolą szczególnie w hepatocytach zwierząt, którym podawano hormon przez okres 3 miesięcy (ryc. 3). Również jąderka są tu dość duże, spotyka się je w znacznie większej ilości, dochodzącej nawet do 5, często leżą one przy błonie jądrowej.

Kwas dezoksyrybonukleinowy (DNA)

Grupa kontrolna. Dodatnia reakcja Feulgena na DNA jest obserwowana w jądrze komórkowym w postaci skupisk w pobliżu błony jądrowej lub okolicy przyjąderkowej. Tego rodzaju obrazy widoczne są w hepatocytach wszystkich trzech stref zrazika, środkowej, pośredniej i obwodowej. Dodatkowo odczyny występują nie tylko w jądrach komórek parenchymalnych wątroby, lecz również w jądrach komórek fagocytarnych Browicza-Kupffera.

Grupa I, II i III dośw. W jądrach komórkowych tkanki wątrobowej szczurów doświadczalnych dodatni odczyn Feulgena na DNA pozostaje nie zmieniony u zwierząt kastrowanych (grupa I dośw.) oraz tych, które po operacji otrzymywały metylolestosteron (grupa II dośw.). Natomiast u szczurów nie kastrowanych po podaniu hormonu zauważono w hepatocytach duże grudki chromatyny na obwodzie jądra tuż przy błonie jądrowej (ryc. 4).

Glikogen

Grupa kontrolna. W grupie kontrolnej obserwuje się charakterystyczne ułożenie glikogenu w obrębie zrazika. Komórki leżące w pobliżu żyły środkowej są bogate w glikogen, natomiast w miarę przesuwania się ku obwodowi zrazika, liczba komórek wykazujących reakcję PAS pozytywną maleje. W związku z tym, w obrazie mikroskopowym zwraca na siebie uwagę mozaika utworzona z komórek dających silny i słaby odczyn (ryc. 5). Badania kontrolne, wykonane przy pomocy diastazy oraz dimedonu potwierdzają ważność odczynu na glikogen. Między grupami kontrolnymi (a, b, c) nie zauważono wyraźnych różnic w rozmieszczeniu i ilości glikogenu.

Grupa I dośw. Ilość komórek wykazujących reakcję PAS dodatnią w wątrobie zwierząt kastrowanych zwiększa się w porównaniu z kontrolą. Szczególnie jest to dobrze dostrzegalne w 2 tygodnie, a także 1 miesiąc po kastracji. W tym okresie w pobliżu żyły środkowej wzrasta ilość hepatocytów wykazujących intensywną reakcję PAS. Również na obwodzie zrazika wzrasta liczba komórek z dużą zawartością glikogenu (ryc. 6).

Grupa II dośw. W wątrobie zwierząt kastrowanych, którym podawano metylolestosteron przez 2 tygodnie i 1 miesiąc obrazy rozmieszczenia glikogenu w komórkach wątrobowych są zbliżone do tych, które uzyskano u zwierząt tylko kastrowanych. Natomiast po 3 miesiącach obserwuje się nieznaczny spadek liczby komórek wykazujących reakcję PAS pozytywną i to zarówno w pobliżu żyły środkowej, jak i w okolicy żyły wrotnej.

Grupa III dośw. Szczury, które otrzymywały metylolestosteron przez 3 miesiące posiadają mało komórek dających reakcję PAS pozytywną w pobliżu żyły środkowej. Natomiast na obwodzie zrazika można obserwować dużą liczbę hepatocytów z nieznaczną ilością glikogenu (ryc. 7). Gdy hormon podawano zwierzętom przez krótki okres czasu, tj. 2 tygodnie, uzyskane obrazy rozmieszczenia glikogenu są podobne do tych, które występowały u szczurów kontrolnych.

Lipidy

Grupa kontrolna. Zastosowana do wykrywania lipidów metoda z su-danem czarnym B, pozwala wykazać duże nagromadzenie tłuszczów w komórkach w okolicy żyły środkowej, natomiast znacznie mniejsze ilości w leżących na obwodzie zrazika (ryc. 8). Tego typu rozmieszczenia lipidów potwierdzają również barwienia czerwienią tłuszczową 7B, gdzie wykazano w licznych hepatocytach środkowej strefy zrazika duże krople tłuszczów nagromadzone w cytoplazmie komórek wątrobowych. Natomiast w komórkach tworzących obwodową strefę zrazika ilość lipidów jest mała. Dodatkowo odczynny wykazano także w komórkach Browicza-Kupffera.

Grupa I dośw. W wątrobie zwierząt po gonadektomii obserwowano duże nagromadzenie lipidów w komórkach wątrobowych nie tylko w pobliżu żyły środkowej, lecz również w obwodowej strefie zrazika, szczególnie dobrze widoczne w 2 tygodnie i 1 miesiąc po kastracji. W późniejszym okresie nie zauważono różnic w porównaniu z obrazami wątroby zwierząt kontrolnych (ryc. 9).

Grupa II dośw. W wątrobie zwierząt otrzymujących metylolestosteron po kastracji przez 2 tygodnie, 1 i 3 miesiące nie obserwowano zmian w lokalizacji lipidów w zraziku wątrobowym w porównaniu z grupą kontrolną.

Grupa III dośw. Podawanie szczurom nie kastrowanym metylotestosteronu powodowało wzrost ilości kropeł tłuszczów w hepatocytach środkowej strefy zrazika w porównaniu do obrazów zwierząt kontrolnych.

M u k o p o l i s a c h a r y d y k w a ś n e

Grupa kontrolna. W komórkach wątrobowych barwionych błękitem alcjanowym wykazano bardzo słabe odczyny na mukopolisacharydy kwaśne. Nieco silniejsze występują jedynie w hepatocytach leżących przy samej żyłce środkowej, natomiast wyraźne odczyny spotykane w komórkach Browicza-Kupffera oraz tkance łącznej międzyzrazikowej i w ścianach naczyń.

Grupa I, II i III dośw. Odczyny na mukopolisacharydy kwaśne w tkance wątrobowej nie różnią się od grupy kontrolnej.

F o s f a t a z a k w a ś n a (FK)

Grupa kontrolna. Aktywność fosfatazy kwaśnej w komórkach wątrobowych zwierząt kontrolnych wykazana zarówno metodą Gomoriego, jak również metodą sprzęgania z solą dwuazową Fast Garnet GBC jest obserwowana w cytoplazmatycznych ziarnistościach (lizosomy), rozłożonych wzdłuż kanalików żółciowych (ryc. 10). Lizosomy występują także w niewielkiej ilości w całej cytoplazmie komórkowej. Dużą aktywność FK wykazano w komórkach fagocytarnych Browicza-Kupffera (ryc. 11).

Grupa I dośw. We wczesnym okresie po gonadektomii (2 tygodnie) zwracają uwagę zmiany w rozmieszczeniu lizosomów w komórkach wątrobowych. Widoczne jest zmniejszenie ich liczby w pobliżu kanalików żółciowych, widoczne są również duże lizosomy (cytolisomy) (ryc. 12). Natomiast w 3 miesiącu po trzebieniu rozmieszczenie jak i ilość lizosomów w komórkach wątrobowych jest podobna do kontroli.

Grupa II dośw. Wstrzykiwanie zwierzętom kastrowanym metylotestosteronu przez okres 2 tygodni nie powoduje widocznych zmian w lokalizacji lizosomów, a dłuższe działanie hormonu przez okres 1, a zwłaszcza 3 miesiące daje tylko nieznaczny wzrost liczby lizosomów, skupionych wokół kanalików żółciowych (ryc. 13).

Grupa III dośw. Szczury, które otrzymywały przez okres 2 tygodni metylotestosteron, nie wykazują istotnych zmian w lokalizacji i wielkości lizosomów w komórce wątrobowej. Natomiast podawanie hormonu przez 1 miesiąc, a zwłaszcza 3 miesiące, powoduje nagromadzenie lizosomów w pobliżu kanalików żółciowych (ryc. 14).

Fosfataza zasadowa (FZ)

Grupa kontrolna. Aktywność fosfatazy zasadowej w tkance wątrobowej jest widoczna w śródbłonku naczyńowym zrazika oraz większych naczyń krwionośnych, zwłaszcza w przestrzeniach wrotnych. Występuje także w błonach komórkowych i nabłonku wyściełającym przewody żółciowe międzyzrazikowe.

Grupa I, II i III dośw. Odczyny na aktywność fosfatazy zasadowej w tkance wątrobowej nie wykazują zasadniczych różnic w porównaniu z grupą kontrolną.

5-nukleotydaza (5-N)

Grupa kontrolna. Odczyny na 5-nukleotydazę można obserwować w tkance łącznej międzyzrazikowej, ścianach naczyń oraz sinusoidach. Bardzo słabe odczyny widoczne są w cytoplazmie komórek wątrobowych. Aktywność enzymu jest zwykle większa na obwodzie zrazika niż w okolicy żyły środkowej. Należy zaznaczyć, że po 2-godzinnej inkubacji w skrawkach wątrobowych dają się wykazać kanaliki żółciowe, jednak nie są one tak wyraźne, jak w wątrobie inkubowanej w środowisku zawierającym ATP.

Grupa I dośw. W tkance wątrobowej zwierząt kastrowanych zauważono osłabienie aktywności 5-N w sinusoidach, a także w większych naczyniach krwionośnych, lecz tylko w 2 tygodnie po gonadektomii (ryc. 15). W późniejszych okresach obrazy nie różnią się od obserwowanych u zwierząt kontrolnych.

Grupa II i III dośw. Zwierzęta kastrowane, które otrzymywały metylotestosteron nie wykazują zmian aktywności enzymu w porównaniu z I grupą doświadczalną. Natomiast u zwierząt nie operowanych po podaniu metylotestosteronu przez 3 miesiące wzrasta aktywność 5-N wokół naczyń krwionośnych, a także dają się zauważyć odczyny w niektórych kanalikach żółciowych (ryc. 16).

Pirofosfataza tiaminowa (TPP-aza)

Grupa kontrolna. Enzym hydrolizujący pirofosforan tiaminy wykazywany jest w kanalikach żółciowych, które umiejscowione między komórkami wątrobowymi tworzą siateczkę w obrębie zrazika.

Grupa I dośw. We wczesnym okresie po kastracji (2 tygodnie), nie wszystkie kanaliki dają intensywne odczyny na TPP-azę i siatka kanalików żółciowych nie jest już tak regularna (ryc. 17). W późniejszym okresie po trzebieniu kanaliki żółciowe dają silne odczyny, sieć ich jest znacznie lepiej rozwinięta i przypomina obrazy wątroby zwierząt kontrolnych.

Grupa II dośw. W tkance wątrobowej zwierząt kastrowanych, którym podawano metylolestosteron przez 2 tygodnie i 1 miesiąc oraz 3 miesiące nie wykazano zmian w aktywności TPP-azy w kanalikach żółciowych, w porównaniu z grupą I doświadczałą.

Grupa III dośw. Odczyn TPP-azy w tkance wątrobowej zwierząt nie kastrowanych, którym podawano metylolestosteron, jest intensywny w kanalikach leżących na obwodzie zrazika. Kanaliki w tych miejscach są poszerzone i wykazują silny odczyn TPP-azy, szczególnie w wątrobie zwierząt, którym podawano hormon przez 3 miesiące (ryc. 18). Nie daje się tego zauważyć w wątrobie tych szczurów, które otrzymywały go przez 2 tygodnie i 1 miesiąc. W tych przypadkach obrazy są podobne do kontrolnych.

A deno z y n o t r ó j f o s f a t a z a (ATP-aza)

Grupa kontrolna. Aktywność ATP-azy występuje przede wszystkim w kanalikach żółciowych oraz małych cytoplazmatycznych ziarnach (ryc. 19). Reakcję wykazano również w przestrzeniach międzyzrazikowych, gdzie odczyny widoczne są w ścianach naczyń i przewodów żółciowych oraz tkance łącznej.

Grupa I dośw. ATP-aza w kanalikach żółciowych daje słabsze odczyny w pobliżu żyły środkowej niż w strefie obwodowej zrazika, co szczególnie widoczne jest w wątrobie zwierząt w 2 tygodnie i po 1 miesiącu po trzebieniu (ryc. 20).

Grupa II dośw. Aktywność ATP-azy w kanalikach żółciowych szczurów kastrowanych, które otrzymywały metylolestosteron przez 1 i 3 miesiące, jest podobna do obserwowanej w wątrobie zwierząt kontrolnych.

Grupa III dośw. Podawanie metylolestosteronu szczurom przez krótki (2 tygodnie) lub długi (3 miesiące) okres czasu nie wpływa na zmianę aktywności ATP-azy w kanalikach żółciowych.

E s t e r a z a n i e s p e c y f i c z n a (N-E)

Grupa kontrolna. Komórki wątrobowe wykazują szczególnie bogatą aktywność esterazy niespecyficzej. Hepatocyty obwodowej strefy zrazika dają intensywną reakcję, która staje się osłabiona w komórkach w okolicy żyły środkowej. W pojedynczych komórkach aktywność N-E jest wysoka w pobliżu błony komórkowej i jądrowej.

Grupa I dośw. W wątrobie zwierząt kastrowanych aktywność esterazy niespecyficzej maleje we wszystkich strefach zrazika. Prawie jednolity, słaby odczyn występuje w cytoplazmie komórkowej. Osłabienie aktywności jest wyraźnie widoczne w wątrobie szczurów po 2 tygodniach i 1 miesiącu po kastracji (ryc. 21). Po 3 miesiącach odczyny wzrastają, lecz nie dorównują obrazom uzyskanym w wątrobie zwierząt kontrolnych.

Grupa II dośw. Podawanie metylotestosteronu zwierzętom kastrowanym przez 3 miesiące powoduje wzrost aktywności esterazy niespecyficznej, szczególnie w komórkach obwodowej strefy zrazika. Po 2 tygodniach i po 1 miesiącu podawania hormonu nie zauważa się zmian w aktywności enzymu w hepatocytach w porównaniu z grupą I.

Grupa III dośw. W wątrobie zwierząt nie operowanych, którym podawano metylotestosteron, komórki obwodowej strefy zrazika wykazują dużą aktywność esteraz, a szerokość tej strefy znacznie się poszerza. Spotykano hepatocyty z dużym nagromadzeniem enzymu oraz takie, które wykazują małą jego aktywność (ryc. 22).

Glikozo-6-fosfataza (G-6-P-aza)

Grupa kontrolna. Aktywność glikozo-6-fosfatazy w komórkach wątroby normalnych szczurów jest intensywna, przy czym komórki leżące w pobliżu przestrzeni wrotnych wykazują nieco większą aktywność od znajdujących się w centralnej strefie zrazika (ryc. 23). Oglądając obrazy pod dużym powiększeniem widzi się intensywny odczyn G-6-P-azy w cytoplazmie, lecz nie jest on jednakowy we wszystkich komórkach tej samej strefy zrazika. Jądra komórkowe nie dają reakcji.

Grupa I dośw. W wątrobie zwierząt kastrowanych ciemne ziarna osadu siarczku ołowiu, wykazujące miejsce enzymatycznej aktywności G-6-P-azy znajdowano w mniejszej ilości w cytoplazmie hepatocytów w porównaniu z grupą kontrolną (ryc. 24). Słabe odczyny występują nie tylko w środkowej strefie zrazika, lecz również w komórkach leżących na jego obwodzie, szczególnie widoczne w 2 tygodniu po kastracji.

Grupa II dośw. Aktywność G-6-P-azy w wątrobie zwierząt kastrowanych, którym podawano metylotestosteron daje odmienne obrazy w obrębie zrazika w zależności od czasu, który upłynął po kastracji. I tak w wątrobie szczurów po 2-tygodniowym i po 1-miesięcznym wstrzykiwaniu hormonu obrazy nie różnią się od kontrolnych. Jądra, jak i w poprzednich grupach, pozostają nie zabarwione. Natomiast po 3 miesiącach zauważa się w komórkach parenchymalnych wątroby silniejsze odczyny aktywności G-6-P-azy w porównaniu z I grupą doświadczalną.

Grupa III dośw. W komórkach wątrobowych szczurów, którym podawano metylotestosteron przez 2 tygodnie i 1 miesiąc, reakcja na aktywność G-6-P-azy jest podobna do kontroli. Natomiast po 3 miesiącach podawania hormonu intensywność odczynu jest silniejsza niż w hepatocytach zwierząt kontrolnych (ryc. 25).

Dehydrogenaza bursztynianowa (DB)

Grupa kontrolna. Aktywność dehydrogenazy bursztynianowej, enzymatycznego markera mitochondriów jest obserwowana we wszystkich hepatocytach zwierząt kontrolnych. Największe jednak nasilenie reakcji występuje w komórkach leżących na obwodzie zrazików, a intensywność jej maleje w miarę zbliżenia się do żyły środkowej (ryc. 26).

Grupa I dośw. W komórkach wątrobowych zwierząt w 2 tygodnie po gonadektomii zmniejsza się ilość mitochondriów nie tylko w hepatocytach środkowej strefy zrazika, lecz również leżących na jego obwodzie. Oprócz ziarnistości dwuformazanu obserwuje się monoformazan, co świadczy o słabej aktywności enzymu. Największe obniżenie odczynu zauważono po 2 tygodniach i po 1 miesiącu od kastracji (ryc. 27). W 3 miesiącu aktywność DB zwiększa się, lecz nie dorównuje kontrolnej.

Grupa II dośw. Dwa tygodnie i 1 miesiąc podawania metylotestosteronu charakteryzują się odczynami podobnymi do wątrobę zwierząt kastrowanych, natomiast w 3 miesiącu odczyny odpowiadają wątrobie zwierząt kontrolnych.

Grupa III dośw. Aktywność DB jest szczególnie wysoka w komórkach położonych w okolicy żyły wrotnej. Znajdujące się tu hepatocyty wykazują równomierne rozmieszczenie mitochondriów, większe nagromadzenia wykazano głównie w tej części komórki, która przylega do naczyń krwionośnych. Reakcja enzymatyczna w komórkach leżących w środkowej strefie zrazika jest słabsza w porównaniu z aktywnością w hepatocytach na obwodzie zrazika, szczególnie w pobliżu triad. Opisane obrazy są spostrzegane tylko w wątrobie zwierząt, którym podawano metylotestosteron przez okres 3 miesięcy (ryc. 28). Natomiast po 2 tygodniach i po 1 miesiącu ilość i rozmieszczenie mitochondriów w komórkach wątrobowych jest podobne do kontrolnych.

OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ

Głównym androgenem jądra, wydzielanym przez komórki Leydiga jest testosteron (Miętkiwski 1949). Nadmiar lub niedobór androgenów jądrowych wpływa przede wszystkim na czynność gruczołów dokrewnych, a w szczególności przysadki mózgowej i nadnerczy (Miętkiwski — 1959, Wiśniewski — 1959, 1960). Pojawienie się komórek kastracyjnych w przysadce mózgowej po usunięciu gonad, a w korze nadnerczy warstwy X, uważane jest za wynik niedoboru androgenów jądrowych.

W stanach pooperacyjnych dużą rolę przypisuje się zespołowi ogólnej adaptacji (GAS) (Selye — 1960). W okresie pooperacyjnym przedni płąt przysadki mózgowej wydziela hormony kortykotropowe, które powodują

rozrost kory nadnerczy i nadmierne wydzielanie 11-oksysterydów (Drews — 1956), uzupełniając tym samym niedobór androgenów jądrowych. Niedobór androgenów powoduje również zmniejszanie wagi wątroby i zmiany ilości RNA w hepatocytach (Kochakian i Harrison — 1962). Szczególnie widoczne zahamowanie wzrostu wątroby było obserwowane, gdy kastracji poddano niedojrzałe płciowo samce szczurów (Swartz — 1960).

Nasze obserwacje rozpoczęto dopiero po 2 tygodniach po kastracji. Należało bowiem wykluczyć wpływ zabiegu operacyjnego. W związku z tym wprowadzono dodatkowo grupę zwierząt pozornie operowanych, ażeby stwierdzić, czy istotnie obserwowane zmiany pokastracyjne nie są spowodowane samym zabiegiem lub stresem pooperacyjnym. Porównanie tkanki wątrobowej zwierząt pozornie operowanych z materiałem kontrolnym nie wykazało istotnych różnic w odczynach histochemicznych. Przy zabiegu operacyjnym stosowaliśmy narkozę eterową, która wg Hillera i wsp. (1963, 1966) powoduje najmniejsze zmiany w obrazach histologicznych wątroby.

Przeprowadzone przez nas badania, dotyczące wpływu kastracji na tkankę wątrobową, wskazują na występowanie zmian w odczynach histochemicznych hepatocytów. Zmiany te najbardziej wyraźne były w tkance wątrobowej szczurów w 2 tygodnie po kastracji i stopniowo zacierały się w miarę upływu czasu po trzebieniu. Dotyczą one przede wszystkim odczynu na kwas rybonukleinowy, glikogen oraz lipidy i niektóre odczyny enzymatyczne, jak np. glikozo-6-fosfatazy, esterazy niespecyficznej, fosfatazy kwaśnej, ATP-azy, TPP-azy i dehydrogenazy bursztynianowej.

We wczesnym okresie po kastracji (2 tygodnie) w komórkach wątrobowych zwierząt operowanych słabsza jest pyroninochłonność cytoplazmy w porównaniu z kontrolą. Zmniejsza się także wielkość, a w niektórych komórkach i ilość jąderek. Nie obserwowano wyraźnych zmian odczynów DNA, jedynie zwrócono uwagę, na występowanie skupień substancji Feulgen dodatnich w pobliżu błony jądrowej. W miarę upływu czasu po kastracji wykazano stopniowy wzrost ilości RNA, który jednak po 3 miesiącach od zabiegu nie dorównywał wartościom kontrolnym. Uważamy, podobnie jak Watson (1963), że osłabienie odczynu RNA w cytoplazmie i jąderkach świadczy o zaburzeniu jego metabolizmu i związanej z nim syntezy białek. Również Kochakian (1959, 1964) oraz Williams-Ashman (1965) dowodzą, że regulacja syntezy protein przez androgeny, obserwowana w wielu tkankach, jest ściśle związana z metabolizmem kwasów nukleinowych, co z kolei wpływa na regulację wzrostu różnych narządów i tkanek (Makarow — 1961, Biedź-Bielawski — 1964).

Wpływ androgenów na metabolizm komórkowy jest wyraźnie widoczny w dodatkowych narządach płciowych męskich (Staszyc — 1959, Coasta — 1962, Deimbling — 1965), w mięśniach Kochakian i wsp. — 1961, 1964) oraz w nerkach (Kochakian i wsp. — 1963, Staszyc — 1966). Synteza białek w pęcherzykach nasiennych szczurów osiąga maksimum po 1—2 dniach podawania metylotestosteronu (Wilson — 1962).

Obniżeniu RNA w komórkach wątrobowych kastrowanych szczurów towarzyszy zmniejszenie aktywności enzymatycznej fosfatazy kwaśnej. Fosfataza kwaśna, jak wiadomo, jest enzymem związanym z procesami katabolicznymi komórki. Występuje ona w lizosomach, które biorą udział w wewnątrzkomórkowym trawieniu (Vorbrodt i Krzyżowska-Gruca — 1963, Wolna — 1968). Zaangażowanie się lizosomów w procesach cytolitycznych (de Duve i wsp. — 1955, Novikoff — 1959, 1961, Królikowska-Prasał — 1965) jest wyrazem przemian wewnątrzkomórkowej organizacji, a powiązanie z procesami sekrecyjnymi potwierdza współzależność z aparatem Golgiego (Lojda i Zawistowski — 1960, Novikoff i wsp. — 1964, Królikowska-Prasał — 1966).

W wątrobie zwierząt kastrowanych (2 tygodnie) zauważono zmniejszenie liczby lizosomów w pobliżu kanalików żółciowych. Obok małych lizosomów spotykano duże — cytolisomy opisane przez Novikoffa i Essnera (1962). Zmiany w ilości i lokalizacji lizosomów w hepatocytach świadczą o zahamowaniu anabolicznych, a wzroście katabolicznych procesów w komórce. Może to być spowodowane ubytkiem hormonów androgennych gonady. O udziale fosfataz w metabolizmie komórkowym oraz w katalizowaniu procesów syntezy drogą fosforylacji i hydrolizy estrów fosforanowych donoszą Fortak (1962), Goodland i Mills (1957).

Enzymy specyficzne dla danej struktury komórkowej, tzw. markery (Novikoff i Essner — 1960, 1962), poprzez odpowiednie odczyny histochemiczne pozwalają na wnikliwą ocenę stanu czynnościowego i strukturalnego ważnych składników komórkowych. W naszym doświadczeniu osłabienie odczynu G-6-P-azy, enzymatycznego markera retikulum endoplazmatycznego było spostrzegane we wszystkich komórkach leżących zarówno w środkowej, jak i obwodowej strefie zrazika. Zmniejszenie odczynu może być wykładnikiem regulacji poziomu cukru we krwi oraz dostarczeniu glikozy z glikogenu wątrobowego.

W wątrobie zwierząt kastrowanych w 2 tygodnie po operacji następuje osłabienie odczynu na ATP-azę w błonach cytoplazmatycznych. Prawdopodobnie jest to związane z różną przepuszczalnością ATP przez błony, prowadzi do zahamowania wewnątrzkomórkowego metabolizmu

i znajduje powiązanie z procesami syntezy białek i kwasów nukleinowych (V o r b r o d t — 1958, W i l l i a m s — 1964, B a ń k o w s k i — 1963).

Spostrzegane przez nas obniżenie odczynów aktywności 5-nukleotydazy w ścianach naczyń krwionośnych i sinusoidach wątrobowych wskazuje na osłabienie jej udziału w transporcie przez błony we wczesnym okresie po gonadektomii (2 tygodnie).

Przeprowadzone badania świadczą również, że usunięcie gonad samcom może wpływać nie tylko na obniżenie ilości RNA, aktywności G-6-P-azy, ATP-azy, TPP-azy, 5-nukleotydazy w hepatocytach, lecz jest związane z metabolizmem węglowodanów i lipidów. W 2 tygodnie po kastracji obserwowano odwrotnie proporcjonalną zależność między poziomem RNA a glikogenu w komórkach wątrobowych. W tym okresie wykazano osłabienie odczynów RNA i jednocześnie wzrost odczynu na glikogen, szczególnie widoczne w hepatocytach centralnej strefy zrazika. Już poprzednio zwrócono uwagę, że synteza glikogenu rozpoczyna się w komórkach położonych w sąsiedztwie żyły środkowej (K u b i c k i — 1960, 1963, S a c h s — 1957, C z a p l i c k i — 1956) oraz że funkcja hepatocytów jest odmienna w zależności od ich położenia w zraziku wątrobowym.

Obserwowany przez nas w komórkach wątrobowych zwierząt kastrowanych we wczesnym okresie po gonadektomii znaczny wzrost odczynu na glikogen może świadczyć o zaburzonej gospodarce węglowodanowej związanej z niedoborem androgenów jądrowych.

U kastrowanych szczurów spostrzegano oprócz glikogenu duże nagromadzenie lipidów w hepatocytach. Przypuszcza się, że przyczyną odkładania lipidów w komórkach wątrobowych we wczesnym okresie pokastracyjnym jest zmniejszona aktywność esteraz oraz dehydrogenazy bursztynianowej, a także wzmożone wydzielanie gonadotropin przysadkowych i kortykosteroidów przez korę nadnerczy.

Charakterystyczne rozmieszczenie w obwodowej strefie zrazików odczynów na aktywność dehydrogenazy bursztynianowej enzymatycznego markera mitochondriów było przez nas obserwowane i w wątrobie szczurów kastrowanych. Jednak ilość mitochondriów w tych komórkach była mniejsza w porównaniu z kontrolnymi. Obwodowa lokalizacja SD w zraziku wątrobowym jest prawdopodobnie związana z kierunkiem wewnętrznego krążenia. W przeciwieństwie do nas R a n d a n i (1958), badając homogenaty wątrobowe kastrowanych szczurów zauważa wzrost aktywności SD. Prawdopodobnie odmienne wyniki spowodowane są różnicami technik oraz przygotowaniem materiału do badań. Udział dehydrogenazy bursztynianowej w katabolizmie białek oraz procesach degeneracyjnych został opisany przez V o r b r o d t a (1962). Odmienne wpływy na aktywność SD posiadają steroidy i tyroksyna (H u g g i n s i F u n g - O Y a o —

1959). Na podstawie uzyskanych przez nas wyników należy sądzić, że słabe odczyny dehydrogenazy bursztynianowej w wątrobie szczurów po gonadektomii (2 tygodnie) mogą świadczyć o osłabieniu procesów związanych z wytwarzaniem energii potrzebnej do syntez zachodzących w komórce i jest prawdopodobnie spowodowane niedoborem androgenów jądrowych.

Podawanie kastratom oraz szczurom nie kastrowanym metylotestosteronu ma wpływ na przebieg metabolizmu w komórce wątrobowej. W wątrobie szczurów kastrowanych iniekcje hormonu przeciwdziałają powstałym zaburzeniom spowodowanym brakiem androgenów, normują przemiany wewnątrzkomórkowe i podnoszą intensywność odczynów substancji pyroninochłonnych, co szczególnie wyraźnie da się zauważyć po 3 miesiącach. W przypadku natomiast zwierząt nie kastrowanych udział metylotestosteronu jest mało zaakcentowany, a okres podawania tylko w minimalnym stopniu wpływa na zmianę ilości RNA. Metylotestosteron w wątrobie zwierząt kastrowanych i nie kastrowanych nie powoduje zasadniczych zmian w poziomie DNA.

Wyraźny wpływ metylotestosteronu zaznaczał się zmniejszeniem lipidów w komórce wątrobowej, zwłaszcza gdy hormon był podawany przez dłuższy okres czasu zwierzętom nie kastrowanym. Redukcja lipidów, a przede wszystkim fosfolipidów, trójglicerydów w surowicy i kwasów tłuszczowych w wątrobie pod wpływem androgenów znajduje odzwierciedlenie w pracach Abella i Mosbacha (1962), Furmana i wsp. (1958, 1962), Mosbacha i Abella (1960). Wpływ hormonów na lipidy stwierdzono również w okresach wzrostu wątroby w embrionach szczura (Ostwald i wsp. — 1965).

Fosfataza kwaśna, ATP-aza i TPP-aza dają intensywne odczyny w tkance wątrobowej zwierząt nie kastrowanych po podaniu metylotestosteronu. U zwierząt kastrowanych natomiast hormon powoduje stopniowy wzrost aktywności, a po dłuższym okresie podawania dorównuje odczynom kontrolnym. Działanie metylotestosteronu wyraża się wzrostem ilości i wielkości lizosomów, co zdaje się wskazywać na zwiększoną aktywność procesów metabolicznych. Badania Ahtelika (1960) oraz Grucy (1965) wykazują także wzrost odczynów na fosfatazę kwaśną w wątrobie kastrowanych myszy po podaniu estrogenów. Brachet (1964) zauważył, że pod wpływem testosteronu błony lipidowe lizosomów rozpadają się, a uwolnione wskutek tego enzymy hydrolityczne działają na swoje naturalne substraty i wywołują cytolizę.

Zwierzęta kastrowane, otrzymujące metylotestosteron, wykazują również wzrost odczynu na esterazę niespecyficzną, G-6-P-azę oraz dehydrogenazę bursztynianową. Po 3-miesięcznym wstrzykiwaniu hormonu intensywność odczynów dorównuje kontrolnym. Wpływ hormonów na ko-

mórkę, na jej przemiany enzymatyczne był spostrzegany również przez Duxa (1967), oraz Wysockiego (1963), Villee (1962) oraz Schiefersa i wsp. (1965).

Spadek odczynów na glikogen, który obserwowano po metylo testosteronie w wątrobie zwierząt kastrowanych był wyraźny po 3 miesiącach podawania hormonu. Również Houssay i wsp. (1964) obserwowali zmiany w poziomie glikoproteidów w surowicy po podaniu hormonów płciowych.

Reasumując, należy zauważyć że w wyniku kastracji występuje zwolniona przemiana materii w organizmie. Jesteśmy jeszcze dalecy od poznania ostatecznego mechanizmu działania androgenów na tkankę wątrobową. Nie ulega jednak wątpliwości, że działanie takie istnieje, czego dowodem są obserwowane przez nas zmiany w odczynach histochemicznych. Na podstawie uzyskanych wyników sądzi się, że gonadektomia wpływa na tok zmian metabolicznych, a hepatocyty uważa się za receptory androgenów jądrowych. Obniżenie poziomu androgenów prowadzi do zmniejszenia odczynów na aktywność enzymatyczną G-6-P-azy, esterazy niespecyficznej, fosfatazy kwaśnej, dehydrogenazy bursztynianowej, ATP-azy, TPP-azy, RNA, a do wzrostu glikogenu i lipidów. Zmiany te są zaakcentowane w 2 tygodniu po kastracji, gdy jeszcze występuje znaczne wydzielanie hormonów androgennych przez korę nadnerczy, poprzedzone wzmożoną czynnością przysadki mózgowej. W późniejszym okresie adaptacyjnym omawiane zmiany stopniowo zanikają i po 3 miesiącach w niektórych odczynach nie udaje się wykazać istotnych różnic w porównaniu z grupą kontrolną.

Wyniki uzyskane w naszej pracy pozwalają przyjąć następujące wnioski:

1. Kastracja posiada wpływ na metabolizm komórki wątrobowej, czego wyrazem są zmiany w odczynach histoenzymatycznych fosfatazy kwaśnej, esterazy niespecyficznej, ATP-azy, TPP-azy, G-6-P-azy, dehydrogenazy bursztynianowej.

2. Obniżenie poziomu RNA w hepatocytach świadczy o zmniejszonej syntezie białek w wątrobie szczurów po gonadektomii.

3. Kastracja powoduje zmiany w metabolizmie glikogenu i lipidów, czego dowodem jest wzrost tych odczynów w komórkach wątrobowych.

4. Podawanie metylo testosteronu przez dłuższy okres czasu szczurom kastrowanym przeciwdziała powstałym zaburzeniom, spowodowanym niedoborem androgenów, normuje przemiany wewnątrzkomórkowe.

5. Metylo testosteron podawany zwierzętom nie kastrowanym wzmacnia metabolizm i intensywność wielu odczynów enzymatycznych, a jednocześnie obniża poziom glikogenu, i lipidów w hepatocytach.

OBJAŚNIENIA DO MIKROFOTOGRAFII

Ryc. 1. Wątroba szczura kontrolnego. RNA zlokalizowany w cytoplazmie i jąderkach hepatocytów. Metoda Bracheta. Pow. ok. 600 ×.

Ryc. 2. Wątroba szczura w 2 tygodnie po kastracji. Słaby odczyn RNA w cytoplazmie. Metoda Bracheta. Pow. 600 ×.

Ryc. 3. Wątroba szczura otrzymującego przez 3 miesiące metylotestosteron. Duże zbite grudki pyroninochłonne leżące w całej cytoplazmie. Metoda Bracheta. Pow. ok. 600 ×.

Ryc. 4. Wątroba szczura w 2 tygodnie po kastracji. Dodatni odczyn DNA w jądrach komórkowych. Metoda Feulgena. Pow. ok. 600 ×.

Ryc. 5. Wątroba szczura kontrolnego. Silne odczyny na glikogen w hepatocytach znajdujących się w pobliżu żyły środkowej. Reakcja PAS. Pow. ok. 150 ×.

Ryc. 6. Wątroba szczura w 2 tygodnie po kastracji. Duże nagromadzenie glikogenu w hepatocytach. Reakcja PAS. Pow. 400 ×.

Ryc. 7. Wątroba szczura, który otrzymywał przez 3 miesiące metylotestosteron. Niewielka liczba komórek wykazujących dodatnie odczyny PAS. Pow. ok. 600 ×.

Ryc. 8. Wątroba szczura kontrolnego. Duże nagromadzenie lipidów w okolicy żyły środkowej, małe na obwodzie zrazika. Barwienie sudanem czarnym B. Pow. 150 ×.

Ryc. 9. Wątroba szczura w 2 tygodnie po gonadektomii. Duże nagromadzenie lipidów w komórkach. Barwienie sudanem czarnym B. Pow. ok. 400 ×.

Ryc. 10. Wątroba szczura kontrolnego. Aktywność fosfatazy kwaśnej w lizosomach rozmieszczonych wzdłuż kanalików żółciowych. Metoda Gomoriego. Pow. 200 ×.

Ryc. 11. Wątroba szczura kontrolnego. Duże skupienia lizosomów przy kanalikach żółciowych. Metoda Gomoriego. Pow. 400 ×.

Ryc. 12. Wątroba szczura w 2 tygodnie po gonadektomii. Ziarna lizosomów różnej wielkości zlokalizowane przy kanalikach żółciowych. Metoda Gomoriego. Pow. ok. 600 ×.

Ryc. 13. Wątroba szczura kastrowanego po 3-miesięcznym podawaniu metylotestosteronu. Wzrost liczby lizosomów przy kanalikach żółciowych. Metoda Gomoriego. Pow. ok. 500 ×.

Ryc. 14. Wątroba szczura otrzymującego przez 3 miesiące metylotestosteron. Duże nagromadzenie lipidów w pobliżu kanalików żółciowych. Metoda Gomoriego. Pow. ok. 600 ×.

Ryc. 15. Wątroba szczura w 2 tygodnie po kastracji. Słabe odczyny 5-N w sinusoidach i ścianach naczyń krwionośnych. Metoda Wachstein i Meisel. Pow. ok. 250 ×.

Ryc. 16. Wątroba szczura otrzymującego przez 3 miesiące metylotestosteron. Wysoka aktywność 5-N w ścianach naczyń i sinusoidach oraz widoczne odczyny w kanalikach żółciowych. Metoda Wachstein i Meisel. Pow. ok. 300 ×.

Ryc. 17. Wątroba szczura w 2 tygodnie po kastracji. Nieregularna sieć kanalików żółciowych, wykazujących aktywność TPP-azy. Metoda Novikoffa i Goldfischera. Pow. ok. 400 ×.

Ryc. 18. Wątroba szczura, któremu podawano przez 3 miesiące metylotestosteron. Silne odczyny TPP-azy w kanalikach żółciowych. Metoda Novikoffa i Goldfischera. Pow. ok. 400 ×.

Ryc. 19. Wątroba szczura kontrolnego. Intensywny odczyn ATP-azy w kanalikach żółciowych. Metoda Wachstein i Meisel. Pow. 500 ×.

Ryc. 20. Wątroba szczura po 2 tygodniach po kastracji. Słabe odczyny ATP-azy w kanalikach żółciowych. Metoda Wachstein i Meisel. Pow. ok. 400 ×.

Ryc. 21. Wątroba szczura w 2 tygodnie po kastracji. Słabe odczyny N—E we wszystkich hepatocytach. Metoda sprzęgania z solą dwuazową Fast Garnet GBC wg Pearse. Pow. 400 ×.

Ryc. 22. Wątroba szczura, który otrzymywał przez 3 miesiące metylotestosteron. Wysoka aktywność N-E w hepatocytach. Metoda sprzęgania z solą Fast Garnet GBC wg Pearse. Pow. 400 ×.

Ryc. 23. Wątroba szczura kontrolnego. Intensywne odczyny G-6-P-azy w komórkach obwodowej strefy zrazika. Metoda Wachstein i Meisel. Pow. ok. 200 ×.

Ryc. 24. Wątroba szczura po 2 tygodniach po kastracji. Słabe odczyny G-6-P-azy w cytoplazmie wielu hepatocytów. Metoda Wachstein i Meisel. Pow. ok. 400 ×.

Ryc. 25. Wątroba szczura otrzymującego przez 3 miesiące metylotestosteron. Intensywne odczyny G-6-P-azy w cytoplazmie hepatocytów. Metoda Wachstein i Meisel. Pow. ok. 400 ×.

Ryc. 26. Wątroba szczura kontrolnego. Intensywny odczyn SD w obwodowej strefie zrazików. Metoda Nachlasa. Pow. ok. 50 ×.

Ryc. 27. Wątroba szczura w 2 tygodnie po gonadektomii. Słabe odczyny SD w cytoplazmie komórkowej. Metoda Nachlasa. Pow. ok. 400 ×.

Ryc. 28. Wątroba szczura po 3 miesięcznym podawaniu metylotestosteronu. Odczyny na SD w komórkach wątrobowych. Metoda Nachlasa. Pow. ok. 400 ×.

PIŚMIENNICTWO

1. Abell L. L., Mosbach E. H.: *J. Lipid. Res.* 3, 88—90, 1962.
2. Achtelik W.: *Folia Biologica* 14, 85—99, 1960.
3. Achtelik W., Gruca S.: *Folia Biologica* 10, 47—58, 1962.
4. Bańkowski Z.: *Folia Histochem. Cytochem.*, 1, 17—46, 1963.
5. Ber A.: *Endokrynol. Polska* 8, 228—244, 1957.
6. Biedź-Bielawski D.: *Post. Hig. i Med. Dośw.* 18, 837—847, 1964.
7. Brachet J.: *Biochemia rozwoju*, PWN, Warszawa 1964.
8. Bulmer D.: *Stain Tech.* 34, 95—98, 1959.
9. Carmichael R. H., Wilson C., Martz B. L.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 113, 1006—1008, 1963.
10. Charvat J.: *Hormony sterydowe*, PZWL, Warszawa 1953.
11. Coasta C., Kochakian C. D., Hill J.: *Endocrinology* 70, 175—181, 1962.
12. Czaplicki J.: *Folia Morphol.* 7, 199—205, 1956.
13. Dadlez J., Kubikowski P.: *Farmakologia i toksykologia leków*. PZWL, Warszawa 1954.
14. Deimling O. V., Baumann G., Noltenius H.: *Histochemie* 5, 1—10, 1965.
15. Drews R.: *Pol. Przegl. Chirurg.* 28, 875—878, 1956.
16. de Duve C., Pressman B. C., Gianetto R.: *Biochem. J.* 60, 604—617, 1955.
17. Dux K.: *V Sympozjum wpływu hormonów na komórkę w aspekcie badań histochemicznych i cytochemicznych*. Poznań 1967.
18. Fischer A.: *Physiologie und experimentelle Pathologie der Leber*. Budapest, Akademieverlag, Berlin 1959.
19. Fortak W.: *Folia Morphol.* 4, 465—485, 1962.

20. Furman R. H., Howard R. P., Alaupovic P.: *J. Lab. Clin. Med.* **69**, 875—876, 1962.
21. Furman R. H., Howard R. P., Norcia L. W., Keaty E. C.: *Am. J. Med.* **24**, 80—97, 1958.
22. Gomori G.: *Microscopic Histochemistry*. The University of Chicago Press, 1953.
23. Goodland G. A. J., Mills G. T.: *Biochem. J.* **60**, 346—354, 1957.
24. Grayhack J. T., Scott W. W.: *Endocrinology* **48**, 453—461, 1951.
25. Gruca S.: *Folia Histochem. Cytochem.* **3**, 41—52, 1965.
26. Hiller S., Kędzia H., Kozłowska K.: *Folia Morphol.* **25**, 9—20, 1966.
27. Hiller S., Kędzia H., Kozłowska H., Zawistowski S.: *Folia Morphol.* **14**, 169—181, 1963.
28. Houssay A. B., Blumenkrantz N.: *Endocrinology* **74**, 825—832, 1964.
29. Kochakian C. D.: *Acta Endocrinol.* **46**, suppl. 92, 3—16, 1964.
30. Kochakian C. D., Harrison D. G.: *Endocrinology* **70**, 99—108, 1962.
31. Kochakian C. D., Hill J., Aonima S.: *Endocrinology* **72**, 354—363, 1963.
32. Kochakian C. D., Hill J., Coasta G.: *Acta Endocrinol.* **45**, 613—622, 1964.
33. Kochakian C. D., Tanaka R., Hill J.: *Amer. J. Physiol.* **201**, 1068—1072, 1961.
34. Kory C. R., Bradley M. H., Watson R. N., Callahan R., Peters B. J.: *Am. J. Med.* **26**, 243—248, 1959.
35. Królikowska-Prasał I.: *Folia Morphol.* **25**, 221—226, 1966.
36. Królikowska-Prasał I.: *Z. mikrosk.-anat. Forsch.* **75**, 390—399, 1966.
37. Królikowska-Prasał I.: *Z. mikrosk.-anat. Forsch.* **73**, 253—260, 1965.
38. Kubicki S.: *Pol. Arch. Med. Wew.* **33**, 313—322, 1963.
39. Kubicki S., Kraśnik W.: *Acta Physiol. Polon.* **11**, 237—252, 1960.
40. Limanowski A., Brzeziński R.: *Endokrynol. Polska* **17**, 387—395, 1966.
41. Lojda Z., Zawistowski S.: *Folia Morphol.* **19**, 265—273, 1960.
42. Makarow P. W.: *Arch. Anat. Hist. i Embr.* **40**, 3—17, 1961.
43. Miętkiewski K.: *Poznańskie T-wo Przyjaciół Nauk* **7**, 1—104, 1949.
44. Miętkiewski K.: *Folia Morphol.* **10**, 9—27, 1959.
45. Mosbach E. H., Abell L. L.: *Circulation* **22**, 658—659, 1960.
46. Novikoff A. B.: *Biol. Bull.* **117**, 385—395, 1959.
47. Novikoff A. B.: *The Cell*. Ed. J. Brachet, A. E. Mirsky, Academic Press N. Y. 1961, 423—488.
48. Novikoff A. B., Essner E.: *Amer. J. Med.* **29**, 102—131, 1960.
49. Novikoff A. B., Essner E.: *J. Cell. Biol.* **15**, 140—146, 1962.
50. Novikoff A. B., Essner E., Quitana N.: *Fed. Proc.* **23**, 1010—1022, 1964.
51. Novikoff A. B., Goldfischer S.: *Proc. Nat. Acad. Sci.* **47**, 802—810, 1961.
52. Ostwald R., Bouchard P., Miljanick P., Lyman R. L.: *Biochem. J.* **97**, 485—499, 1965.
53. Pearse A. G. E.: *Histochemistry Theoretical and Applied*, Churchill, London 1960.
54. Rodani T. H.: *Am. J. Physiol.* **193**, 73—74, 1958.
55. Sachs A., Johnsten P. M., Morton J. H., Harvey J.: *Exptl. Cell Res.* **12**, 537—545, 1957.
56. Schriefers H., Sharlau G., Pohl F.: *Acta Endocrinol.* **48**, 263—271, 1965.
57. Selye H.: *Stress życia*. PZWL, Warszawa 1960.

58. Staszyc J.: Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Lublin, sec. D, **14**, 59—69, 1959.
59. Staszyc J.: Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Lublin, sec. D, **21**, 61—78, 1966.
60. Vिलlee A.: The Molecular Control of Cellular Activity. Ed. J. M. Allen Mc Graw-Hill Book Comp. New York, Toronto, London 297—318, 1962.
61. Vorbrodt A.: Folia Morphol. **4**, 271—280, 1956.
62. Vorbrodt A.: Exptl. Cell Res. **15**, 1—20, 1958.
63. Vorbrodt A.: Folia Morphol. **18**, 143—164, 1964.
64. Vorbrodt A., Krzyżowska-Gruca S.: Folia Histochem. Cytochem. **1**, 105—206, 1963.
65. Vorbrodt K.: Folia Morphol. **13**, 203—210, 1962.
66. Vorbrodt K.: Folia Morphol. **12**, 325—330, 1961.
67. Wachstein M., Meisel E.: Am. J. Clin. Pathol. **27**, 13—28, 1957.
68. Wachstein M., Meisel E.: J. Histochem. Cytochem. **4**, 592—596, 1956.
69. Watson J. D.: Science **140**, 17—26, 1963.
70. Werner S. C., Hauger F. M., Kritzler K. A.: Am. J. Med. **8**, 325—331, 1950.
71. Williams R. H.: Endokrynologia, PZWL, Warszawa 1964.
72. Williams-Ashman H. G.: Biochem. J. **97**, 22P, 1965.
73. Wilson J. D.: J. Clin. Invest. **41**, 153—161, 1962.
74. Wiśniewski L.: Folia Morphol. **10**, 77—82, 1959.
75. Wiśniewski L.: Endokryol. Polska **11**, 299—312, 1960.
76. Wolna E.: Post. Hig. Med. Dośw. **22**, 215—221, 1968.
77. Wysocki J.: Pol. Arch. Med. Wew. **35**, 1031—1036, 1963.

Otrzymano 16 XI 1968.

РЕЗЮМЕ

Исследования проводились на 174 самцах белых крыс в возрасте 8—10 месяцев. Из них 84 крысы подверглись двусторонней гонадэктомии. Все животные были разделены на 4 группы, три из них были опытные, а одна — контрольная. I группу составляли кастрированные крысы, II — тоже кастрированные крысы, но получающие 2 раза в неделю метилотестостерон (0,5 мг), III — некастрированные, тоже как и II группа получающие метилотестостерон, IV — контрольные крысы.

Животные каждой из групп убивались через две недели, один и три месяца после начала эксперимента. Из правой доли печени брались срезы и на фиксированных или нефиксированных препаратах проводились гистохимические реакции на РНК и ДНК, липиды, гликоген, кислую фосфатазу, щелочную фосфатазу, 5-нуклеодазу, АТФ-азу, ТПП-азу, гликозо-6-фосфатазу, неспецифическую эстеразу и янтарную дегидрогеназу.

В результате проведенных исследований установлено, что гонадэктомия вызывает замедление изменений, происходящих в клетках печени, что подтверждается ослабленными реакциями многих гидро-

литических энзимов, дегидрогеназы янтарной кислоты и РНК, в то же время способствует увеличению содержания жиров и гликогена, особенно через две недели после операции.

Метилотестостерон противодействует расстройствам, вызванным отсутствием андрогенов в семенниках у кастрированных крыс. Метилотестостерон, подаваемый некастрированным крысам, увеличивает метаболизм многих энзиматических реакций и одновременно понижает уровень гликогена и липидов в клетках печени.

S U M M A R Y

The author carried out studies of 174 white male rats, 8 to 10 months old. Bilateral gonadectomy was performed with 84 rats. There were 3 experimental groups and 1 control. Group I included castrated rats. Group II consisted of castrated rats which were given 0.5 mg of methyltestosterone per animal twice a week. Group III involved noncastrated rats which were given the same quantity of methyltestosterone as those in Group II. Group IV was control.

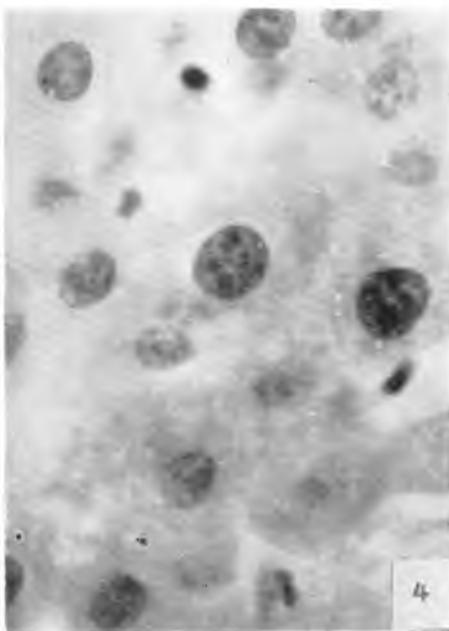
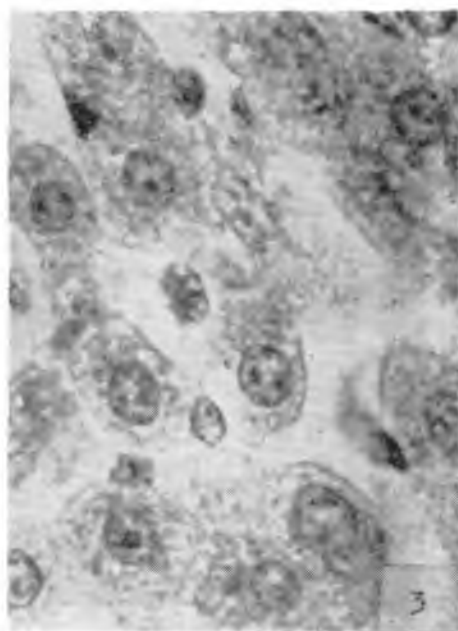
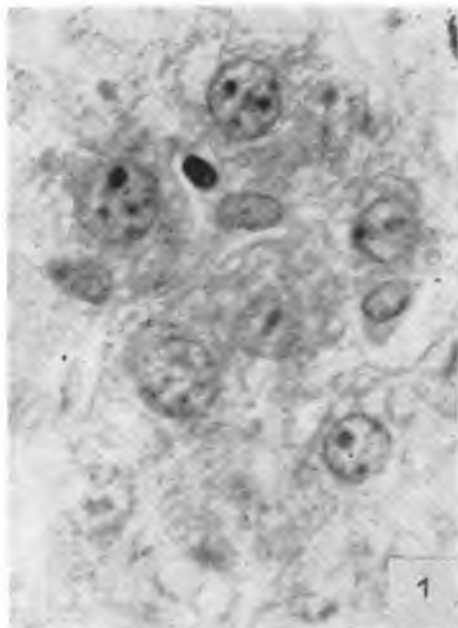
In each group the animals were decapitated at the following times: 2 weeks, 1 month and 3 months after gonadectomy. Samples of the right liver lobe were taken and tests were performed with fixed and nonfixed slices. They included acid phosphatase, alkaline phosphatase 5-nucleosidase, ATP-ase, TPP-ase, G-6-P-ase, nonspecific esterase, and succinic dehydrogenase.

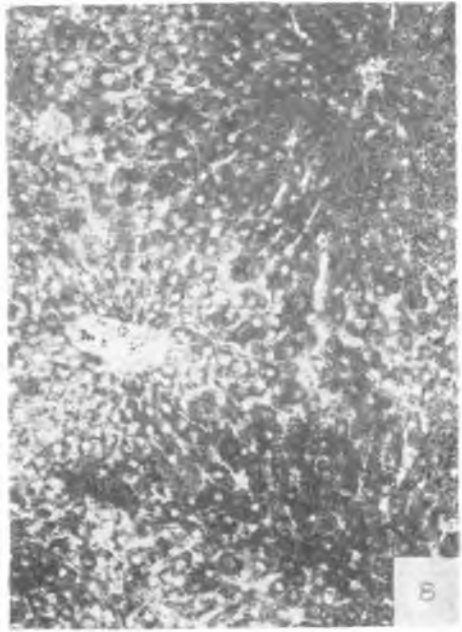
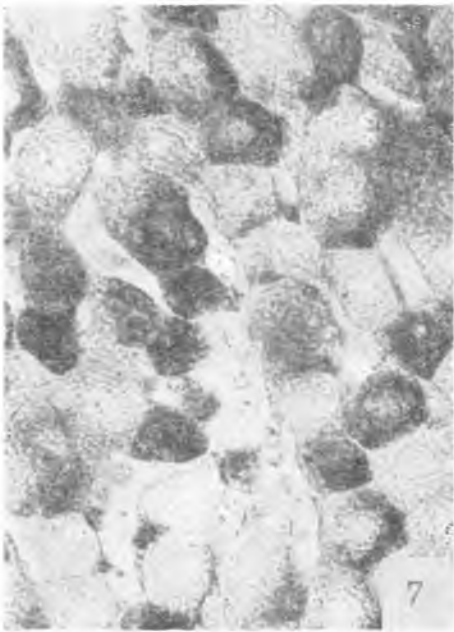
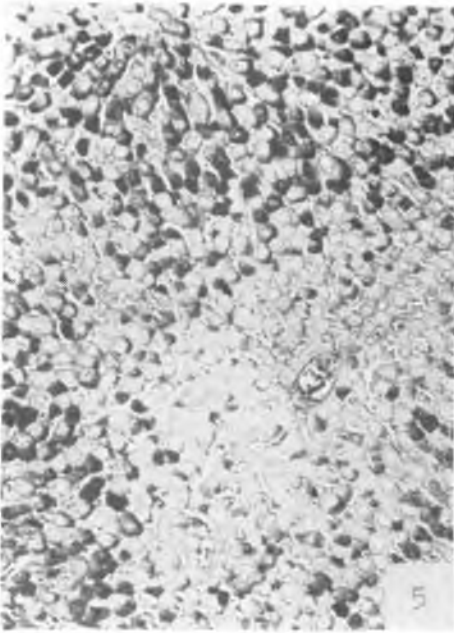
Gonadectomy resulted in a decrease of the changes in the hepatic cells, as proved by reduced reactions of many hydrolytic enzymes accompanied by a simultaneous increase of fats and glycogen, especially 2 weeks after operation.

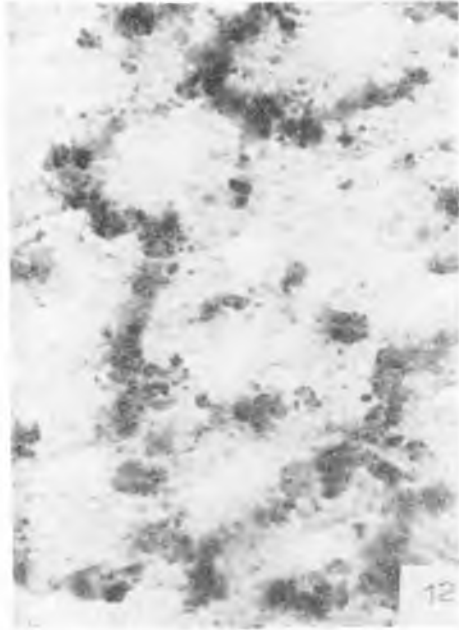
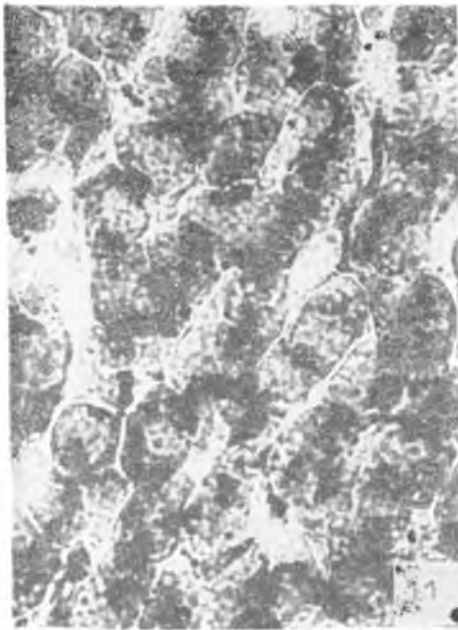
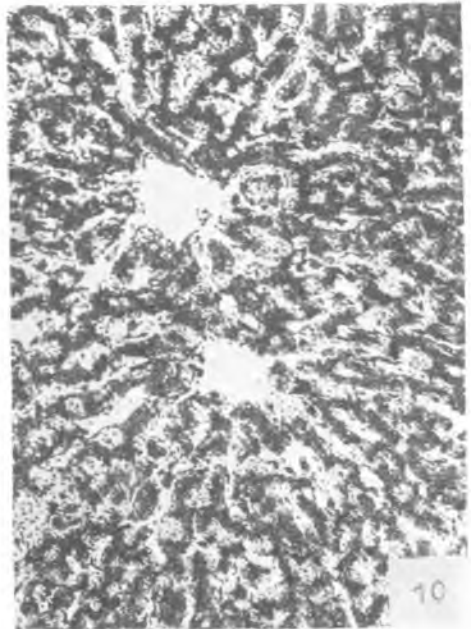
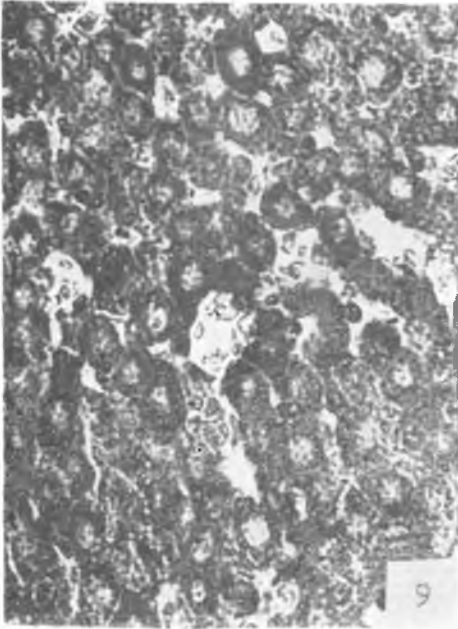
The application of methyltestosterone to castrated rats neutralized disturbances caused by the lack of testicular androgens. In noncastrated rats methyltestosterone increased the metabolism of many enzymatic reactions and caused a simultaneous decrease of the level of glycogen and lipids in the hepatocytes.

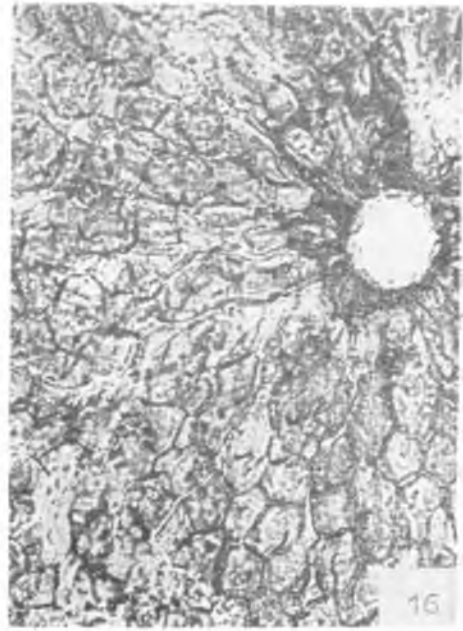
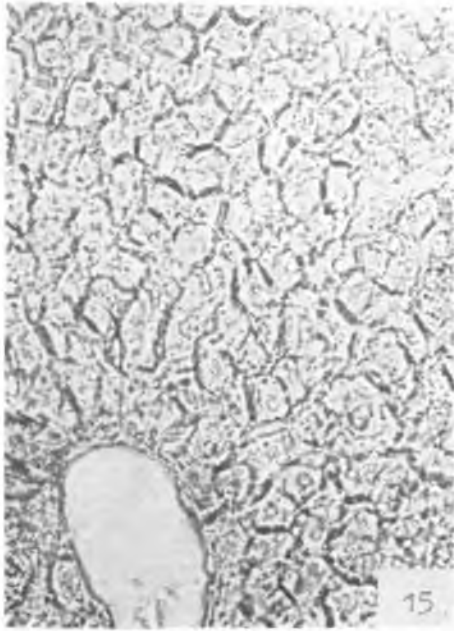
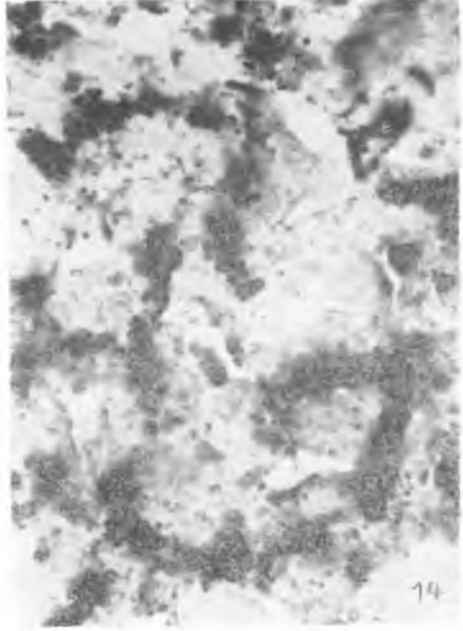
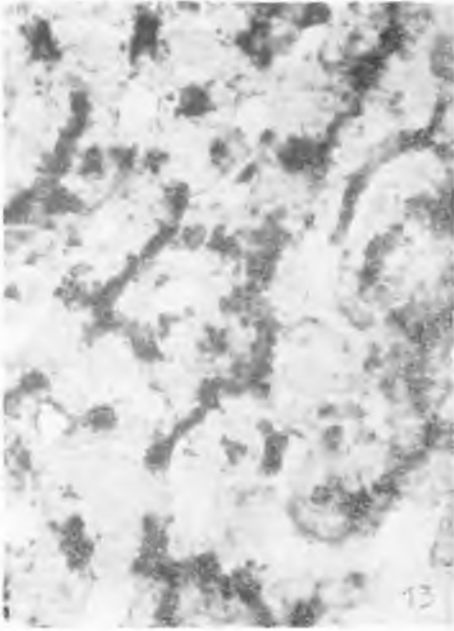
Fig. 1. The liver of a control rat. The localization of RNA in the cytoplasm and nucleoli of hepatic cells. Brachet method $\times 600$.

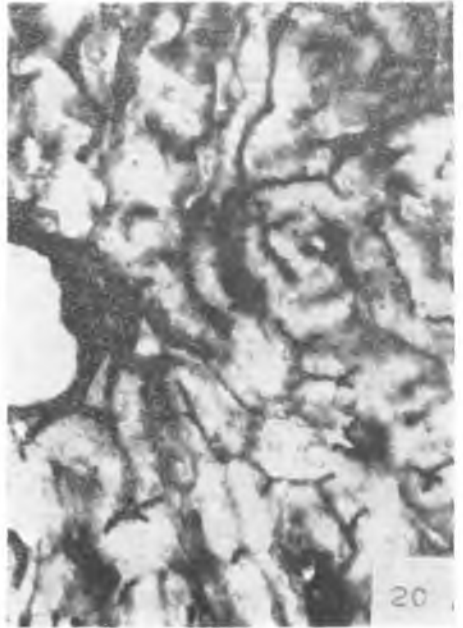
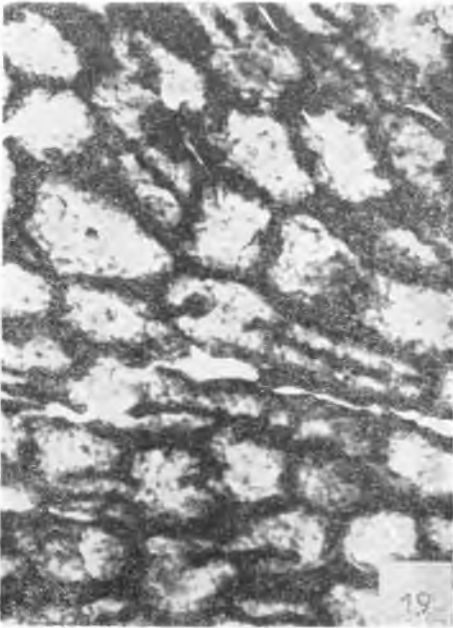
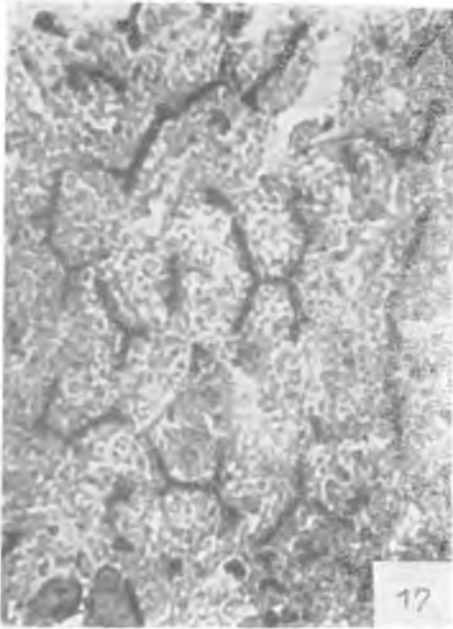
Fig. 2. The liver of a rat two weeks after gonadectomy. A decrease of the RNA reaction in the cytoplasm. Brachet method $\times 600$.

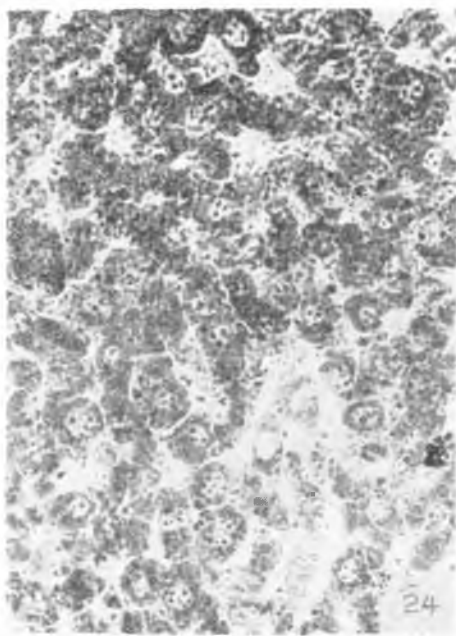
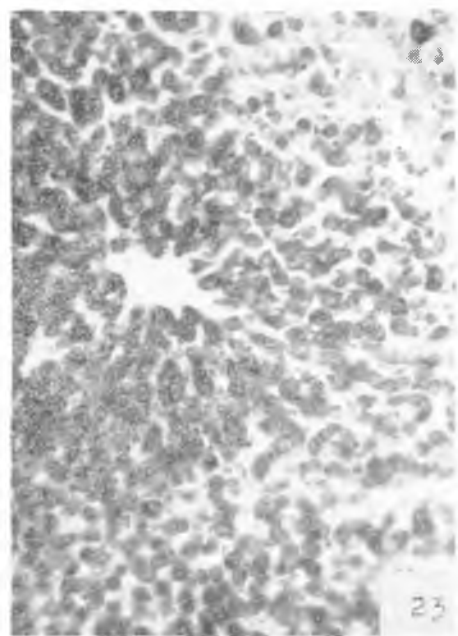
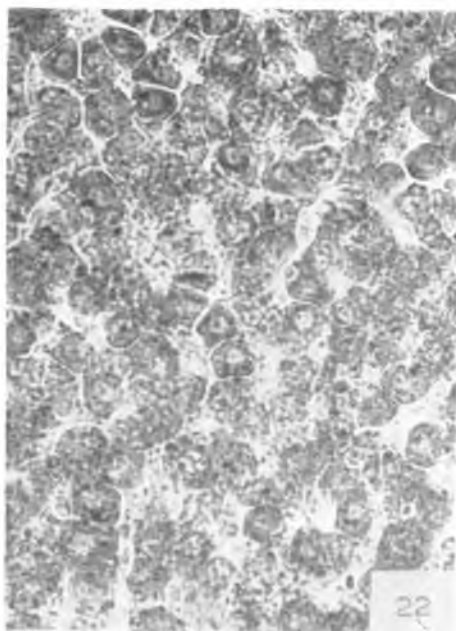
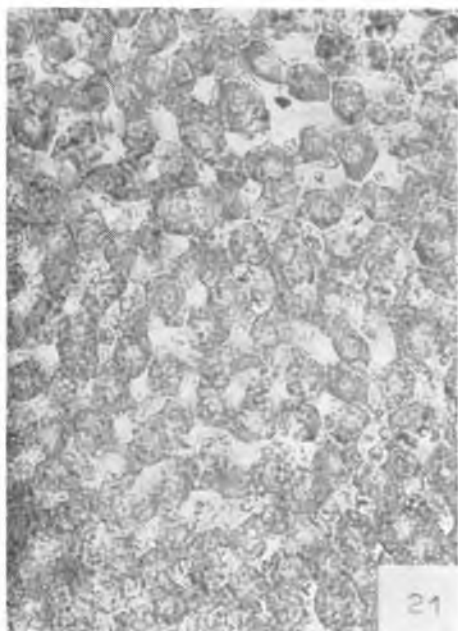












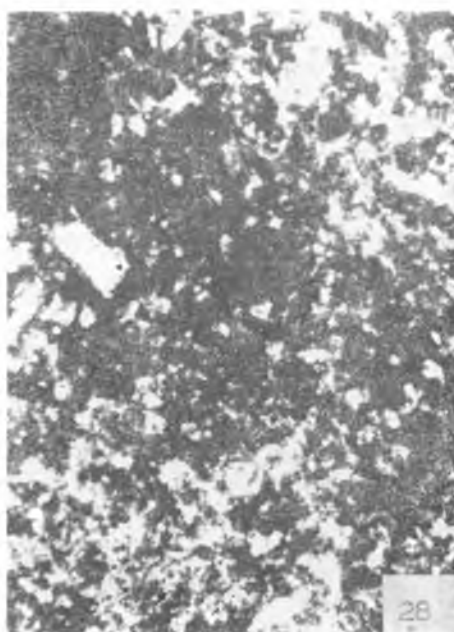
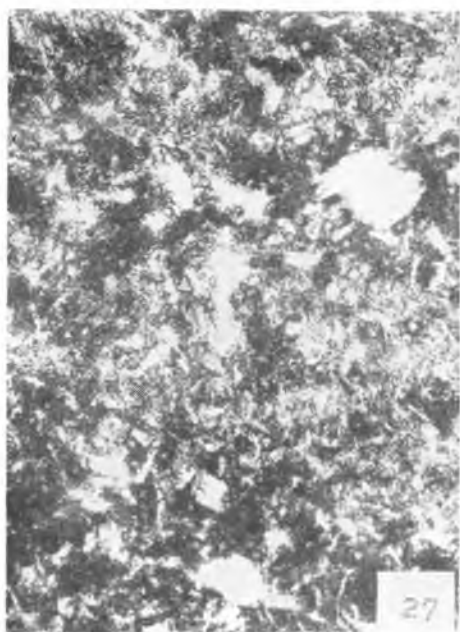
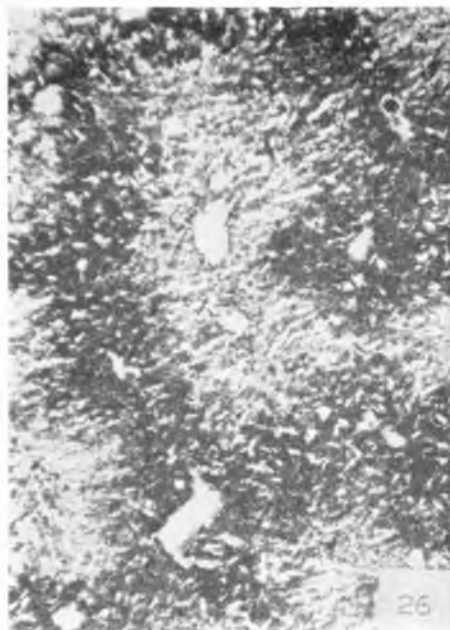
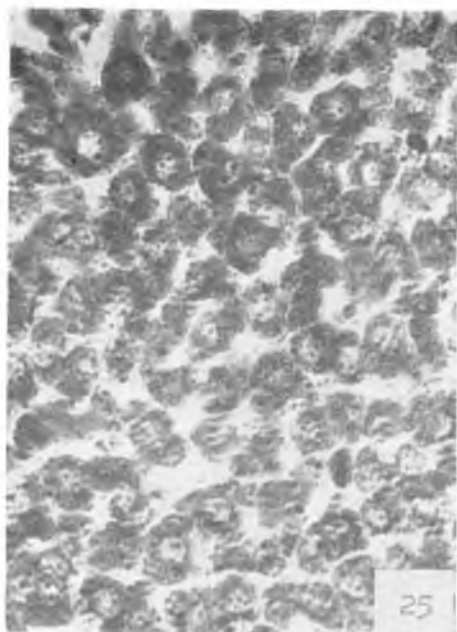


Fig. 3. The liver of a rat after 3-months' administration of methyltestosterone. Large conglomerate of pyroninophilic substance in the cytoplasm. Brachet method. $\times 600$.

Fig. 4. The liver of a rat two weeks after gonadectomy. Positive reaction of DNA in a nucleus. Feulgen method $\times 600$.

Fig. 5. The liver of a control rat. Large reaction of glycogen in the cytoplasm of hepatocytes in the vicinity of the central vein, PAS reaction. $\times 150$.

Fig. 6. The liver of a rat two weeks after gonadectomy. Numerous glycogen grains are seen in the liver cells, PAS reaction. $\times 400$.

Fig. 7. The liver of a rat after continuous administration of methyltestosterone over a period of 3 months. Positive PAS reaction in small numerous cells. $\times 600$.

Fig. 8. The liver of a control rat. Large accumulation of lipids in the vicinity of the central vein, a somewhat smaller content of lipids on the periphery of the lobules. Sudan black B. $\times 150$.

Fig. 9. The liver of a control rat. Acid phosphatase-rich granules (lysosomes) along the bile canaliculi. Gomori method. $\times 200$.

Fig. 11. The liver of a control rat. A large number of lysosomes around the bile canaliculi. Gomori method. $\times 400$.

Fig. 12. The liver of a rat two weeks after gonadectomy. Small and enlarged lysosomes localized along the bile canaliculi. Gomori method. $\times 600$.

Fig. 13. The liver of a castrated rat, continuous administration of methyltestosterone over a period of 3 months, Lysosomes localised near the bile canaliculi. Gomori method. $\times 500$.

Fig. 14. The liver of a rat, after continuous administration of methyltestosterone over a period of 3 months. The number of lysosomes is higher than that in the control animals. Gomori method. $\times 600$.

Fig. 15. The liver of a rat two weeks after gonadectomy. Weak reaction of 5-nucleotidase in the blood vessel walls. Wachstein and Meisel method. $\times 250$.

Fig. 16. The liver of a rat after continuous administration of methyltestosterone over a period of 3 months. Strong 5-nucleotidase reaction in the walls of the vessel blood and bile canaliculi. Wachstein and Meisel method. $\times 300$.

Fig. 17. The liver of a rat two weeks after gonadectomy. Weak TPP-ase activity observed near the lumen of bile canaliculi. Novikoff and Goldfischer method. $\times 400$.

Fig. 18. The liver of a rat, after continuous administration of methyltestosterone over a period of 3 months. Strong positive TPP-ase reaction near the lumen of bile canaliculi. Novikoff and Goldfischer method. $\times 400$.

Fig. 19. The liver of a control rat. ATP-ase reaction in the bile canaliculi. Wachstein and Meisel method. $\times 500$.

Fig. 20. The liver of a rat two weeks after gonadectomy. Weak ATP-ase reaction in the bile canaliculi. Wachstein and Meisel method. $\times 400$.

Fig. 21. The liver of a rat two weeks after gonadectomy. Weak non-specific esterase reaction in the hepatocytes. (L-naphthol acetate and diazonium Salt Fast Garden GBC) Pearse method. $\times 400$.

Fig. 22. The liver of a rat after continuous administration of methyltestosterone over a period of 3 months. High non-specific esterase activity in the hepatic cells. Pearse method. $\times 400$.

Fig. 23. The liver of a control rat. Strong G-6-P-ase activity in the hepatocytes on the periphery of the lobule. Wachstein and Meisel method. $\times 400$.

Fig. 24. The liver of a rat two weeks after gonadectomy. Weak G-6-P-ase reaction in the cytoplasm of hepatocytes. Wachstein and Meisel method. $\times 400$.

Fig. 25. The liver of a rat after continuous administration of methyltestosterone over a period of 3 months. Strong G-6-P-ase activity in the cytoplasm of the hepatic cells. Wachstein and Meisel method. $\times 400$.

Fig. 26. The liver of a control rat. Strong succinate dehydrogenase activity on the periphery of the lobule. Nachlas method. $\times 50$.

Fig. 27. The liver of a rat two weeks after gonadectomy. Weak succinate dehydrogenase reaction in the cytoplasm of the cells. Nachlas method. $\times 400$.

Fig. 28. The liver of a rat after continuous administration of methyltestosterone over a period of 3 months. Succinate dehydrogenase reaction in the hepatocytes. Nachlas method. $\times 400$.