

ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN—POLONIA

VOL. XXXVI, 34

SECTIO D

1981

Zakład Histologii i Embriologii, Instytut Biologiczno-Morfologiczny, Akademia Medyczna
w Lublinie

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Józef Staszyc

Elżbieta Anna JĘDRZEJEWSKA,
Anna ŚWIDERSKA.

**Badania histologiczne kory nadnerczy szczurów białych po długotrwałym
działaniu alkoholu etylowego**

Гистологические исследования коры надпочечника белых крыс после
длительного применения этилового спирта

Research on the Histology of a White Rat's Adrenal Cortex after a Prolonged
Ethyl Alcohol Effect

Ze względu na różne wyniki badań problem wpływu etanolu na nadnercza jest nadal otwarty. Forbes i Dancan (1951) stwierdzili że, na przykład u alkoholików czynność komórek kory nadnerczy może być upośledzona w różnym stopniu nasilenia, niezależnie od okresu nadużywania tego związku. Andrzejewski (1961) i Elko (2) uważają, że niewielkie dawki etanolu, krótkotrwałe stosowane, nie powodują istotnych zmian w budowie gruczołu. Natomiast Vanotti (9) oraz inni autorzy (1, 3) obserwowali zanik kory nadnerczy po odpowiednich dawkach alkoholu w stosunkowo krótkim okresie.

Wobec tych dość rozbieżnych opinii postanowiliśmy prześledzić wpływ długotrwałego stosowania etanolu na istotę korową nadnerczy w warunkach ściśle ustalonego czasowo eksperymentu i na odpowiednim modelu doświadczalnym.

MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Badania przeprowadzono na dojrzałych płciowo samcach szczurów białych, w wieku 5 mies., o ciężarze ciała 220—240 g, hodowli wsobnej. Szczury przebywały w odpowiednim pomieszczeniu i karmione były paszą standardową LSM. Zwierzęta podzielono na 3 grupy:

Grupę I stanowiło 15 zwierząt — które przez okres 6 mies. codziennie, na czczo, otrzymywały sondą dożołądkowo alkohol etylowy 40% w dawce 7 g/kg c.c., co stanowiło około 54% LD₅₀ dla szczura białego.

Grupa II, to 19 zwierząt — które otrzymywały sondą dożołądkowo tylko wodę.

Grupę III zwierząt (5) tzw. kontrolną stanowiły szczury nie podlegające żadnym zabiegom.

Po zakończonym doświadczeniu szczury dekapitowano, pobierano nadnercza, ważono i utrwalano w 10% zubożonej formalinie, a następnie zatapiano w parafinie. Skrawki grubości 7 μ barwiono: 1) hematoksyliną i eozyną, 2) na zmiany martwicze wg Burcka, 3) zrąb łącznotkankowy metodą Zawistowskiego, 4) kwasy nukleinowe metodą Bracheta, 5) reakcję PAS wg McManusa. Dokumentację fotograficzną wykonano przy pomocy mikroskopu „Ergawal” firmy Zeiss—Jena.

WYNIKI BADAŃ

W czasie przeprowadzonego doświadczenia kontrolowano ciężar zwierząt oraz ich nadnerczy (tab. 1). Średni przyrost ciężaru ciała szczurów w ciągu 6 mies. był większy u zwierząt poddanych doświadczeniu i wynosił 72,65 g, podczas gdy u zwierząt kontrolnych grup II i III wahał się w granicach 54—55 g. Natomiast ciężar nadnerczy na 100 g c.c. szczura był niższy u zwierząt grupy I i wynosił 8,2 mg/100 g c.c., podczas gdy w obu grupach kontrolnych był identyczny i wynosił 8,8 mg/100 g c.c.

Tabela 1

Grupa zwierząt Group of animals	Liczba zwierząt Number of animals	Średni ciężar ciała Body weight g		Średni przyrost ciężaru szczura Medium increase of rat body weight	Ciężar nadnerczy Adrenals weight mg	Ciężar nadnerczy w mg na 100 g c.c. szczura Adrenals weight mg/100 g body weight
		przed doświadczeniem before experiment	po doświadczeniu after experiment			
I	15	221,1	293,77	72,65 g 24,7%	24,2	8,2
II	10	235	290	55 g 18,9%	25,5	8,8
III	5	244	298	54 g 18,2%	26,4	8,8

W barwieniu hematoksyliną i eozyną, tak jak i w innych barwieniach, nie obserwowano różnic w budowie histologicznej kory nadnerczy obu grup kontrolnych, dlatego przy omawianiu traktowano je jako jedną. Budowa nadnerczy szczurów białych przypominała opisywaną przez Nicandera, Pawlikowskiego i Zarzyckiego. Zachowany był podział na warstwy oraz radialny układ komórek warstwy pasmowatej (ryc. 1).

Nadnercza u zwierząt grupy I, które były poddane działaniu alkoholu etylowego, wyraźnie różniły się od kontrolnych. Barwieniem hematoksyliną i eozyną stwierdzono zatarcie granic pomiędzy warstwami. Warstwa kłębkowata ulegała zanikowi na korzyść warstwy pasmowatej ogniskowo, a u poszczególnych osobników na całej przestrzeni. Warstwa pasmowata zatracala w różnym stopniu swój radialny układ komórek (ryc. 2). Natomiast w miejscach zaniku warstwy kłębkowatej, a rozrastającej się warstwy pasmowatej obserwowano liczne komórki dwujądrowe (ryc. 3). W porównaniu z grupami kontrolnymi nie stwierdzono zróżnicowania warstwy pasmowatej na strefy zewnętrzną i wewnętrzną.

Bardzo często spotykano komórki „ogromne”, których cytoplazma była słabo eozynochłonna. Komórki tego typu tworzyły skupiska w obrębie warstwy pasmowatej (ryc. 4). Warstwa siatkowata w porównaniu z grupami kontrolnymi nie zawsze stanowiła jednolite utkanie wokół części rdzennej, gdyż często część pasmowata dochodziła do rdzenia nadnerczy. W tych miejscach obserwowano wyraźny wzrost liczby komórek degenerujących.

Barwienie na zmiany martwicze ujawniło w wyżej wymienionych miejscach oraz okolicy krwinkotoków — występowanie licznych komórek w stanie lizy.

Barwienie zrębu łącznotkankowego wykazało poszerzenie torebki narządu, a także włókienek łącznotkankowych od niej wychodzących. Zaobserwowano również, że pomiędzy komórkami „ogromnymi” brak było naczyń krwionośnych, a w najbliższej ich okolicy istniejące naczynia były poszerzone.

W porównaniu z kontrolą mniejsza ilość ziarnistości pyroninochłonnych w cytoplazmie i jąderku wskazywała na obniżenie poziomu RNA. Najwięcej RNA znajdowało się w komórkach na granicy warstw kłębkowatej i pasmowatej, natomiast w komórkach „ogromnych” obserwowano tylko pojedyncze specyficzne ziarenka, świadczące o obecności kwasu nukleinowego.

W barwieniu metodą PAS w porównaniu z grupą kontrolną wykazano niewielki wzrost substancji PAS dodatnich w torebce i zrębie narządu. Duże ilości wielocukrów obserwowano zwłaszcza w miejscach zaburzeń radialnego układu warstwy pasmowatej, a w pobliżu komórek „ogromnych”, z tym że komórki te wykazywały śladowe ilości substancji PAS dodatnich (ryc. 5).

OMÓWIENIE WYNIKÓW I WNIOSKI

Istnieją różne poglądy odnoszące się do wpływu etanolu na organizm człowieka, a między innymi na korę nadnerczy. Do niedawna można było się spotkać ze stosowaniem etanolu nawet jako terapeutyka, jak również ze stwierdzeniem o ochronnym działaniu alkoholu etylowego w przypadkach wpływu szkodliwych bodźców psychicznych i fizycznych na nadnercza. Autorzy, tacy jak Forbes, Duncan, Kissin, Dobrzański, w swoich badaniach są jednak zdania, że etanol wpływa ujemnie na czynności kory nadnerczy.

W naszym doświadczeniu stwierdziliśmy zmniejszenie się stosunku ciężaru nadnerczy do ciężaru ciała. Wyjaśnienia mechanizmu tego stanu należy szukać między innymi, być może, i w spadku ilości RNA w komórkach wszystkich warstw. Uerberger (7) wykazał, że najmniej białek produkowanych jest w warstwie pasmowatej i zależy to od ilości RNA. Również inni autorzy są zdania, że istnieje ścisła zależność pomiędzy objętością jąder, ilością RNA a intensywnością syntezy białek. Można więc tłumaczyć, że niższy ciężar nadnerczy i spadek ilości RNA dały efekt zmniejszonej syntezy białka.

W przeprowadzonym eksperymencie stwierdzono wzrost ilości substancji PAS dodatnich, co w świetle badań Grabowskiej-Hibner (4) i Keidunga (5) pozwala wnioskować o dużej zależności metabolizmu węglowodanów i etanolu.

Biorąc pod uwagę omówione zmiany oraz zanik warstwy kłębkowatej kosztem warstwy pasmowatej, obecność komórek „ogromnych” w warstwie pasmowatej, zaburzenie radialnego układu tej warstwy, występowanie dużej ilości komórek degenerujących w warstwie siatkowatej, można sądzić, że wystąpiło tutaj zjawisko transformacji morfokinetycznej w ujęciu Tonuttiego. Badania Węgla (8), Sławnowa (6), opisującego zmiany w nadnerczach zwierząt starzejących się, oraz Miętkiewskiego i innych autorów, omawiające transformację morfokinetyczną wynikającą z zaburzeń czynności wydzielniczej narządu zwierząt młodych poddanych działaniu silnych środków toksycznych, sugerują, że zmiany te są jakby etapem w rozwoju nowotworów.

Na podstawie przeprowadzonego doświadczenia możemy wnioskować, że alkohol etylowy podawany przez 6 mies. szczurom powoduje zaburzenia w budowie gruczołu, upodabniające go do kory nadnerczy zwierząt starych, bądź zwierząt poddanych działaniu silnych środków toksycznych.

PIŚMIENICTWO

1. Dobrzański T.: Wpływ haloproteidu, chlorodiazepoksydu i chlorometiazolu na zawartość chromogenów Portera-Silbera, glikogenu oraz amoniaku w niektórych narządach szczura w przebiegu ostrego zatrucia etanolem. *Endokr. Pol.* **24**, 171, 1973.
2. Elko E. e., Di Lurio Nr.: Acute Ethanol Intoxication and Lipid Mobilization. *Fed. Procc.* **20**, 276, 1961.
3. Forsander O. A.: Alkohol Studien. *Das Medizinische Prisma.* **3**, 3, 1974.
4. Grabowska-Hibner J., Stiasna I., Szukalski B.: Biochemiczne aspekty alkoholizmu. *Post. Hig. Med. Dośw.* **33**, 197 oraz 325, 1979.
5. Keiding S., Johanson S., Tonnesen K.: Kinetics of Ethanol Inhibition of Galactose Elimination Inperfused Pig Liver. *Scand. J. Clin. Invest.* **37**, 487, 1977.
6. Sławnow W. N., Wałujewa S. W.: Wpływ wieku na czynności niektórych gruczołów wydzielania wewnętrznego. *Endokryn. Pol.* **27**, 365, 1976.
7. Überberger H., Stocker E., Städtler B.: Zur zellulären Nucleinsäure und Proteinsynthese der Nebenniere von Ratten nach Dexamethason Applikation. *Virchows. Arch. Abt. B. Zellpath.* **6**, 97, 1970.
8. Węgiel J., Waniewski E., Dumański Z.: Spontaneous Phatomorphological Changes in Rat Adrenals. *Endokryn. Pol.* **29**, 58, 1978.
9. Vanotti A.: Leberschaden und Regeneration nach Alkoholkonsum. *Verhandl. d. deutsch. Gesellschaft f. innere Medizin. München* 1969, 93.

Otrzymano 4 XII 1980.

OBJASNIENIE RYCIN

Ryc. 1. Grupa kontrolna. Kora nadnerczy barwiona hematoksyliną i eozyną. Pow. ok. 160X.

Ryc. 2. Grupa doświadczalna. Kora nadnerczy barwiona hematoksyliną i eozyną. Widoczny zanik warstwy kłębkowatej i brak radialnego układu pasm warstwy pasmowatej. Pow. ok. 160X.

Ryc. 3. Grupa doświadczalna. Barwienie na zmiany martwicze. Komórki dwujądrowe w warstwie pasmowatej. Pow. ok. 320X.

Ryc. 4. Grupa doświadczalna. Kora nadnerczy barwiona hematoksyliną i eozyną. Komórki „ogromne” w warstwie pasmowatej. Pow. ok. 320X.

Ryc. 5. Grupa doświadczalna. Brak reakcji PAS dodatkowo w komórkach „ogromnych”. Pow. ok. 320X.

РЕЗЮМЕ

Исследовано кору надпочечника половозрелых самцов белых крыс после шестимесячного применения этилового спирта. Этанол вызвал расстройство в строении железы, проявляющееся атрофией клубочкового слоя, неразборчивостью радиальной картины системы клеток лентовидного слоя и выступлением изменений в функции железы, связанных с количеством RNA и углеводов.

SUMMARY

The adrenal cortex of sexually mature male white rats was studied after a 6 months use of ethyl alcohol. Ethanol caused disturbances in the structure of the gland manifesting itself by an atrophy of zona glomerulosa and obliteration of the radial cell system of zona fasciculata as well as by changes in the gland's function connected with the amount of RNA and carbohydrates.

EXPLANATION TO FIGURES

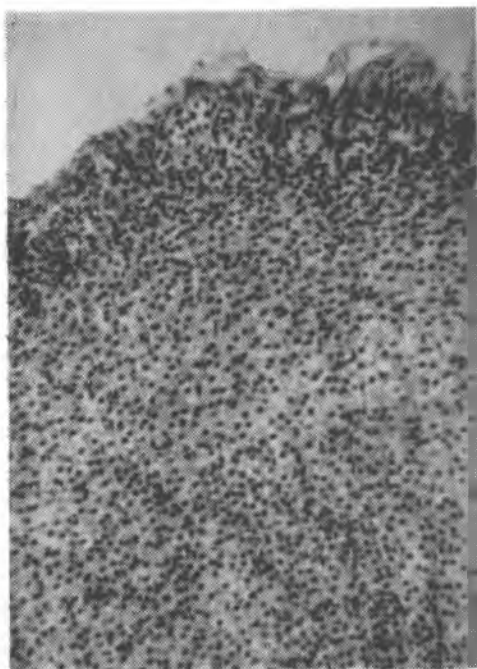
Fig. 1. Control group. Adrenal cortex stained with hematoxyline and eosine. Magn. 160X.

Fig. 2. Experimental group. Adrenal cortex stained with hematoxyline and eosine. Visible atrophy of glomerular layer and lack of radial system of bands in fascicular layer. Magn. 160X.

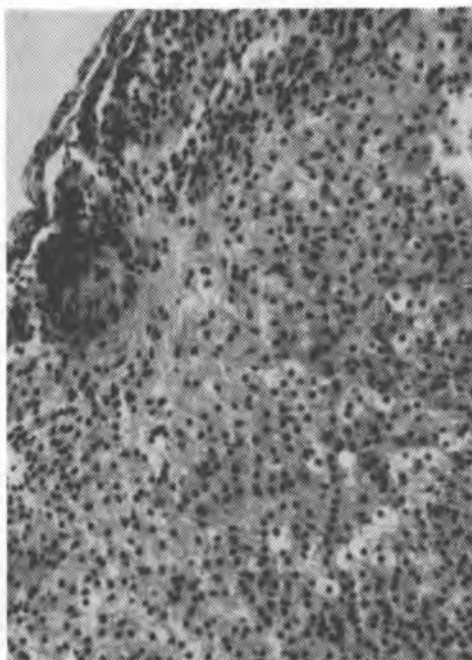
Fig. 3. Experimental group. Staining for necrotic changes. Binuclear cells in fascicular layer. Magn. 320X.

Fig. 4. Experimental group. Adrenal cortex stained with hematoxyline and eosine. "Giant" cells in fascicular layer. Magn. 320X.

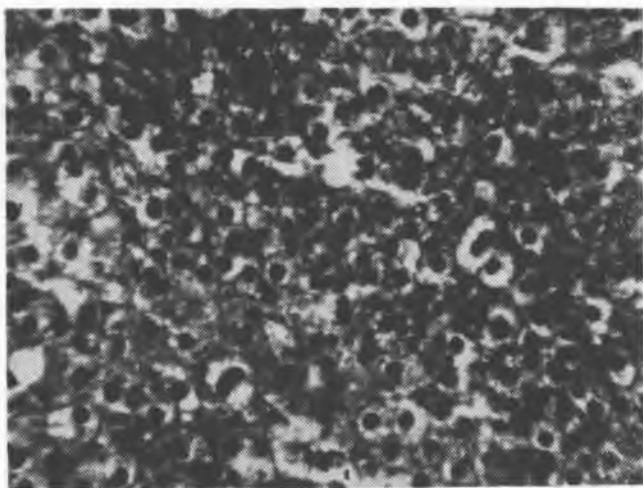
Fig. 5. Experimental group. Lack of PAS positive reaction in "giant" cells. Magn. 320X.



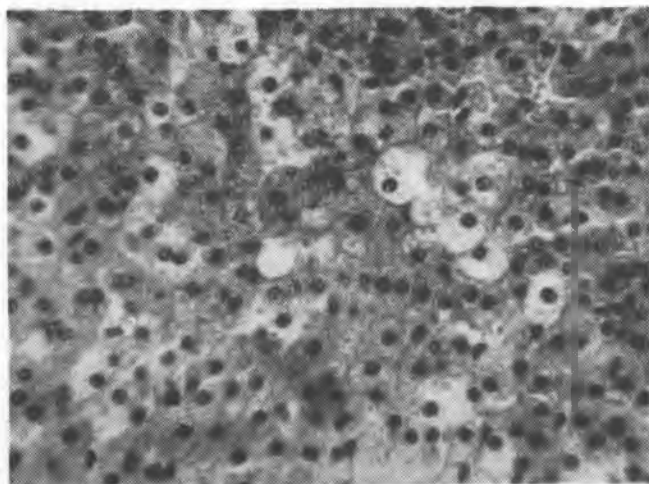
Ryc. 1



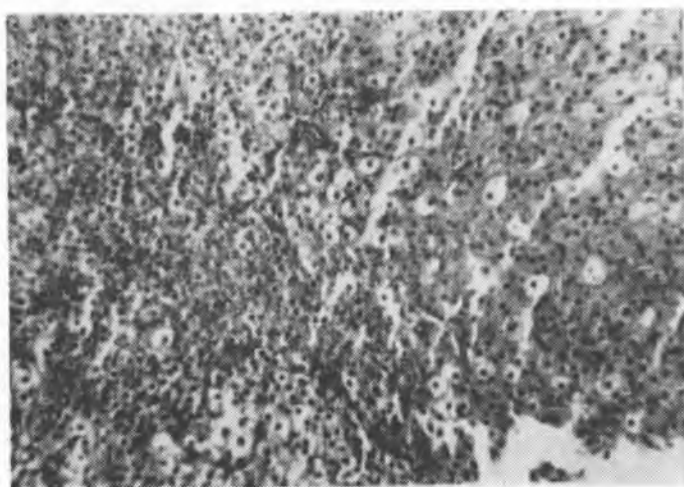
Ryc. 2



Ryc. 3



Ryc. 4



Ryc. 5