

## HISZTOKÉMIAI VIZSGÁLATOK EGÉR MELLÉKVESÉN, KÜLÖNÖS TEKINTETTEL A NEMI KÜLÖNBSÉGEKRE

PAÁL MARGIT

A szegedi Biológiai Vándorgyűlésen elhangzott előadás

Mellékvesén végzett hisztokémiai vizsgálatok során azt észleltük, hogy a kontroll állatok nem adtak egységes eredményt. Az utóbbi években a mellékvese kutatások előtérbe kerülésével igen megnőtt a mellékvese hisztokémiájára vonatkozó irodalom. Az irodalomban azonban hiányzik az az egyértelmű vizsgálati sorozat, mely a különböző vizsgálati állatokban a mellékvese élettanilag igazolt functionális állapota és a hisztokémiai kép között egyértelmű, jól áttekinthető világos összefüggést állapítana meg.

Az irodalmi adatok ennek következtében nem egybehangzóak és szinte áttekinthetetlenek. Ez a metódikák különböző voltából és azok különböző értelmezéséből adódik, valamint abból, hogy a végzett vizsgálatok értékelésénél gyakran nem veszik figyelembe az állatok különböző nemi és hormonális állapotát. Vizsgálataink ez utóbbi kérdés tisztázásához nyújtanak adatokat.

### Anyag és metódus

Megfigyeléseinkhez ivarérett hím és nőstény, infantilis hím és nőstény, gravid, valamint laktáló fehér egerek mellékveséjét használtuk fel, csoportonként 10–15 állatot. A hisztokémiai vizsgálatok a következőkre terjedtek ki:

1. Plasmal reakció az acetalphosphatidák kimutatására (Hayes, 1949).
2. Általános lipoid festési eljárások közül
  - a) Sudan-fekete festés (Mc Manus, 1946),
  - b) Oil Red O festés (Lillie, 1949).
3. A mellékvese ún. ketosteroidjainak kimutatására:
  - a) dinitrofenilhidrazin reakció (Bennet, 1939–40)
  - b) naftolsavhidrazid reakció (Aschbel —Seligman, 1949).
4. Cholesterin kimutatásra: Schultz-reakció (Romieu, 1927)

A felhasznált hisztokémiai reakciókra vonatkozólag a következőket kell megjegyezni: 1. A Plasmal reakció az acetalphosphatidák kimutatására szolgál. E reakció csak fixálatlan fagyasztott metszeten vihető keresztül, mivel csak ebben az esetben nem zavar a pseudo-plasmal reakció. 2. Általános lipoid kimutatásra a használatos festési eljárások közül a Sudan-feketét, valamint az isopropylalkoholban oldott Oil Red O-t használtuk fel, előzőleg

formol-Ca.-ban fixált anyagon. 3. A mellékvese ún. ketosteroidjaira vonatkozólag meg kell jegyeznünk, hogy ezek hisztokémiai kimutatására specifikus eljárás mind ez ideig nincs. Az alkalmazott hisztokémiai reakciók lényegében lipoid természetű aldehid és keto csoportok kimutatásán alapulnak. Erre utal az a tény is, hogy ezen csoportba tartozó reakciók csakis formalinban fixált anyagon mennek végbe. Ebből következik, hogy pozitív reakciót más, lipoid, vagy lipoid keverék is adhat. Mivel azonban ezen lipoid természetű aldehid és keto csoportokat tartalmazó anyagok a mellékvese működésében jelentős szerepet játszanak, ezen anyagok kimutatásán alapuló reakciók megfelelő képet adnak a mellékvese funkcionális állapotáról.

Ezen csoportba tartozó reakciók közül a dinitrofenilhidrazin, naftolsavhidrazid diazotált ortodianizidin reakciókat használtuk fel, formol-Ca.-ban fixált anyagon. 4. Cholesterin kimutatásra Schultz-reakciót végeztünk. A cholesterin, mint ismeretes, a mellékvesekéregben a steroid hormonok prekursoraként szerepel.

*Kísérleti rész, megbeszélés :*

I. *Ivarérett nőstény állatokban* a mellékvesekéregben pozitív plasmal reakciót kapunk. A reakció különösen intenzív a zona glomerulosóban és a fasciculata felső részén. Megállapítható, hogy az ivari ciklus különböző fázisaiban más és más a kéreg plazmalogén tartalmának eloszlása. Megfigyeltük azonban, hogy általában a nőstény állatok mellékvese velőállománya is enyhe pozitív reakciót ad, de az esetek egy részében, csoportosan elhelyezkedve erős, pozitív reakciót adó képletek is láthatók. Ezzel kapcsolatos feltételezésünk az, hogy ezen pozitív reakciót a velőshüvelyek acetalphosphatida tartalma adja. Tekintettel arra, hogy ez a jelenség csakis a nőstény állatok mellékvese velőállományában figyelhető meg, nézetünk szerint a továbbiakban adatokat szolgáltatna a hím és nőstény állatok mellékvese velőállományának különböző beidegzéséhez. Sudan-feketével, és Oil Red O-val a kéreg mindhárom rétege festődik. A festődés különösen erős a zona fasciculata külső részén, gyengébb a zona reticularisban.

A dinitrofenilhidrazin és naftolsavhidrazid reakció a zona glomerulosa és fasciculata területén pozitív. Mindkét reakcióval nincs különbség a zona reticularis területén.

II. *Ivarérett hím állatokban* a különbség nőstény állatokkal szemben az, hogy a plasmal reakció csak a kéregben pozitív, és nem annyira változékony, mint nőstény állatokban. Különbséget mutat a dinitrofenilhidrazin reakció, mely a zona reticularisban negatív.

III. *Infantilis állatokban* a hím és nőstény egyedekben egyaránt pozitív a plasmal reakció. A lipoid festődés egyenlő képet ad. Különbség a ketosteroid és cholesterin tartalomban van. Hím állatokban az egész kéregben, nőstény állatokban viszont csak a zona glomerulosban tudtunk ketosteroidot kimutatni. Cholesterinre nézve fordított a kép.

*IV. Gravid állatok* mellékveséjében igen jellegzetes a zona fasciculata külső szélén erősen plasmal pozitív szemcsék jelenléte. Graviditásban a mellékvese lipid tartalma a zona fasciculata és reticularis területén található. A Schultz-reakció az egész kéreg területén pozitív, ami arra utal, hogy graviditásban a koleszterin nagymértékben felszaporodik.

*V. Laktáló állatokban* az acetalphosphatida tartalom nem mutat küönösebb változást. Igen jellegzetes a mellékvesekéreg lipid tartalmának igen nagymérvű csökkenése. Az alkalmazott lipid festési eljárásokkal csak a zona glomerulosa és a fasciculata felső részén kaptunk festődést. Figyelemre méltó a kéreg lipidjainak ilyen nagymérvű csökkenése, mely a mellékvese lactatio-ban játszó szerepére utal. Ezen megfigyelésre az irodalomban Folley és munkatársainak vizsgálatain kívül alig találunk adatokat. Yoffey és Baxter vizsgálatai szerint a corticalis stimulatio hatására a mellékvese lipidjai kiürülnek. Saját vizsgálataink nem tudnak választ adni arra a kérdésre, hogy a lipid tartalom kiürülése vajon a mellékvese hypertrophia, vagy a lactatio általános (stress), még a mellékvesekéreg lipidjait is mobilizáló hatás következménye-e. Ketosteroid és koleszterin tartalom a zona glomerulosa és fasciculata külső részére lokalizálódik.

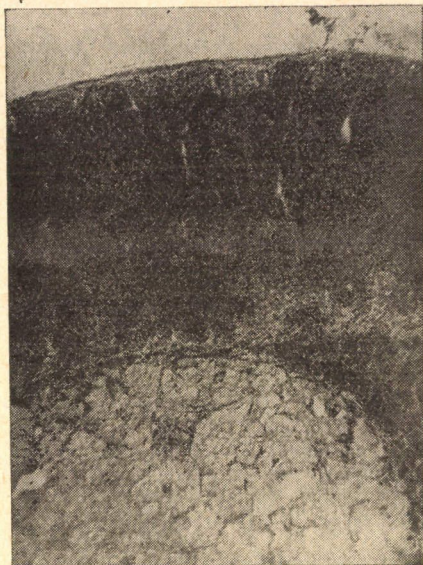
Az észlelt változások mellett fel kell hívni a figyelmet arra, hogy az alkalmazott hisztokémiai reakciók eléggé szembetűnő párhuzamot mutatnak.



1. ábra. I. é. nőstény fehéregér mvese.  
Plasmal reakció



2. ábra. Gravid fehéregér mvese.  
Plasmal reakció



3. ábra. I. é. nőstény fehéregér mvese.  
Sudan-fekete



4. ábra. Laktáló fehéregér mvese.  
Sudan fekete



5. ábra. Gravid fehéregér mvese.  
Schultz-reakció



6. ábra. Laktáló fehéregér mvese.  
Schultz-reakció

E párhuzam okát pontosan nem ismerjük, feltételezzük, hogy ezekért a mellékvesében jelenlevő és kimutatott anyagok bonyolult kémiai szerkezetében található azonos csoportok (keto-, aldehyd-) felelősek.

### Összefoglalás

1. Az elvégzett hisztokémiai vizsgálatokból kitűnik, hogy a mellékvesekéreg funkcionális állapotának vizsgálatára használatos reakciók értékelésénél figyelembe kell venni a felhasznált állatok nemét és azok aktuális hormonális állapotát.

2. Az ivarérett nőstény állatok mellékvese velőállományában jelenlevő, erősen plasmal pozitív képletek jelenlétéért a velőshüvelyek acetalphosphatida tartalma felelős, mely továbbiakban a hím és nőstény állatok mellékvese velőállományának különböző beidegzéséhez szolgáltatna adatokat.

3. Figyelemre méltó a mellékvesekéreg lipidjainak lactatio alatti nagymérvű csökkenése, mely a mellékvesekéreg lactatióban játszó szerepére mutat.

### IRODALOM

1. ASCHBEL R., SELIGMAN A. M.: A new reagent for the histochemical demonstration of active carbonyl groups. A new method for staining ketonic steroids. *Endocrinology* 44. 565. 1949.
2. BENNET, H. S.: Localisation of adrenal cortex of the cat. *Proc. Soc. Exp. Biol. N. Y.* 42. 786. 1939.
3. BENNET, H. S.: The life history and secretion of the cells of the adrenal cortex of the cat. *Amer. J. Anat.* 67. 151—227. 1940.
4. FOLLEY, S. J., A. L. GREENBAUM.: Effects of adrenalectomy and of treatment with adrenal cortex hormones on the arginase and phosphatase levels of lactating rats. *Biocemic. J.* 40. 46—51. 1946.
5. FOLLEY, S. J.: Lactation. *Biol. Rev. Cambridge. Phil. Soc.* 15. 421—458. 1940.
6. HAYES, E. R.: Rigorous redefinition of the plasmal reaction. *Stain Technol.* 24. 19—23. 1949.
7. LILLIE, R. D.: Various oil soluble dyes as fat stains in supersaturated isopropanol technic. *Stain Technol.* 19. 55. 1944.
8. MC. MANUS, J. F. A.: The demonstration of certain fatty substances in paraffin sections. *J. Pat. Bact.* 58. 93—95. 1946.
9. YOFFEY, J. M., BAXTER, J. S.: Histochemical changes in the suprarenal gland of the adult male rat. *J. of Anat.* 83, 89—98. 1949.