

Zmiany aktywności komórek wysp Langerhansa w trzustce samca żaby trawnej w okresie hibernacji

Trzustka (*pancreas*) jest gruczołem o podwójnym wydzielaniu, a mianowicie: zewnętrznym — egzokrynowym i wewnętrznym — endokrynowym. Część zewnętrznowydzielnicza trzustki ma budowę pęcherzykową, podczas gdy część dokrewna tworzy w obrębie gruczołu, głównie jego trzonu i ogona, wyspy trzustkowe Langerhansa.

Zakończenie różnicowania się anatomicznego i funkcjonalnego wysepek jest stosunkowo późne, tak u płazów ogoniastych jak i bezogonowych i zachodzi prawdopodobnie w czasie metamorfozy (Frye 1958, 1959).

Wyspy Langerhansa u płazów opisał po raz pierwszy Diamere w 1899 r. badając trzustkę traszki grzebieniastej. Komórki budujące trzustkę są zróżnicowane. Swoiste utrwalenie i barwienie preparatów histologicznych pozwala na wyróżnienie kilku rodzajów komórek. Te komórki, których ziarnistości cytoplazmy są kwasochłonne i rozpuszczalne w wodzie nazwano komórkami α . Wydzielają one glukagon. Komórki o ziarnistościach zasodochłonnych w cytoplazmie, rozpuszczalne w alkoholu, to komórki β wydzielające insulinę (Foa i inni 1957).

Analiza roli wydzielin endokrynowych trzustki płazów rozpoczęła się wraz z eksperymentami prowadzonymi w 1894 r. przez Marcuse i 1910 r. Loewita (za Gorbmanem 1964). Wykazali oni, że u *Rana temporaria* (L.) z usuniętą trzustką pojawiał się cukromocz, wzrastała ilość wydzielanego moczu, a z czasem zmniejszała się wątroba. Następne badania tego typu prowadzono na takich gatunkach płazów jak *Rana catesbeiana*, *R. pipiens*, *Bufo arenarum*, *B. marinus*, *B. paracnemis*, *B. d'Orbigny*, *Leptodactylus ocellatus*, *Ceratophrys ornata* i *Taricha torosa*. W wszystkich przypadkach cukrzyca prowadziła ostatecznie do śmierci.

Jednym z ważniejszych eksperymentów było wykazanie, że wycięcie części przysadki mózgowej u *Bufo arenarum* jest skutecznym czyn-

nikiem redukującym cukier we krwi u osobników z cukrzycą, wywołaną usunięciem trzustki (Houssay i Biasotti 1930, za Gorbmanem 1964).

Celem niniejszej pracy, będącej fragmentem badań nad trzustką żaby trawnej, było przesłedzenie aktywności komórek wysp Langerhansa, mierzonej zmianami w objętości jąder komórkowych w okresie hibernacji.

MATERIAŁ I METODYKA BADAŃ

Badania przeprowadzono na dojrzałych płciowo samcach żaby trawnej (*Rana temporaria* L.) złowionych w okolicach Krakowa (50°00'N, 20°20'E 200—210 m npm.) w następujących okresach badawczych, przyjętych za Juszczkiem (1974): 3 dekada października (początek snu zimowego), 3 dekada stycznia (środek snu zimowego), 1 dekada marca (wyjście z zimowiska, wędrówki godowe). Do badań użyto po 5 samców dojrzałych płciowo, mniej więcej tej samej wagi ciała z każdego okresu badawczego. Żaby zabijano przez dekapitację, a następnie wy-preparowywano trzustki, które utrwalano w płynie Bouina. Utrwalony narząd zatapiało w parafinie o temperaturze topnienia +56°C. Otrzymane bloczki krojono na skrawki grubości 5 μm, a następnie barwiono część preparatów metodą Azan wg Heidenhaina, część hemato-ksylina Delafielda i eozyną, część zaś według metody Gomoriego. Na wybarwionych w ten sposób preparatach dokonano pomiarów kariometrycznych jąder komórek wysp Langerhansa, a następnie stosując wzór Palkovitsa (1963) obliczono objętość tych jąder. Wyniki sprawdzono statystycznie stosując test Studenta-Gosseta, przyjmując różnicę za statystycznie istotną, jeżeli wartość „t” jest równa lub wyższa od 3,3.

WYNIKI BADAŃ

Trzustka żaby trawnej ma postać wydłużonego, o nieregularnych kształtach narządu, koloru żółtego. Anatomicznie wyróżnić można w trzustce głowę, trzon i ogon. Otoczona jest osłonką łącznotkankową wnikającą do niej, dzieląc w ten sposób narząd na zraziki. W tkance łącznej międzyzrazikowej znajdują się naczynia krwionośne i przewody wyprowadzające międzyzrazikowe. Miąższ trzustki zbudowany jest z komórek zewnątrzwydzielniczych z przewodami wyprowadzającymi i skupisk komórek (wysp) o charakterze wewnątrzwydzielniczym. Komórki wyspowe ściśle do siebie przylegają i odznaczają się w barwieniu hematoksyliną z eozyną i metodą Azan jaśniejszym odcieniem w porównaniu z resztą gruczołu. Centralną ich część zajmuje dobrze widoczne ciemniej wybarwione jądro (fot. 2, 3, 4).

W początkowym okresie snu zimowego (3 dek. października) średnia objętość jąder komórkowych wysp Langerhansa wynosi 145,363 μm³,

a w środkowym okresie snu zimowego (3 dek. stycznia) 137,440 μm^3 (tab. 1, fot. 1). Różnica w objętości między tymi okresami wynosi 7,923 i jest statystycznie nieistotna, ponieważ wartość „t” równa jest 0,93.

Tabela 1

ZMIANY OBJĘTOŚCI JĄDER KOMÓRKOWYCH WYSP LANGERHANSA
W TRZUSTCE SAMCA ŻABY TRAWNEJ W OKRESIE HIBERNACJI

badawczy Okres	Objętość jąder komórek wysp Langerhansa w μm^3			Odchylenie standardowe
	min.	śred.	max.	
3 dekada października	43,389	145,363	245,757	23,98
3 dekada stycznia	57,802	137,440	267,947	28,16
1 dekada marca	63,698	194,442	393,111	20,61

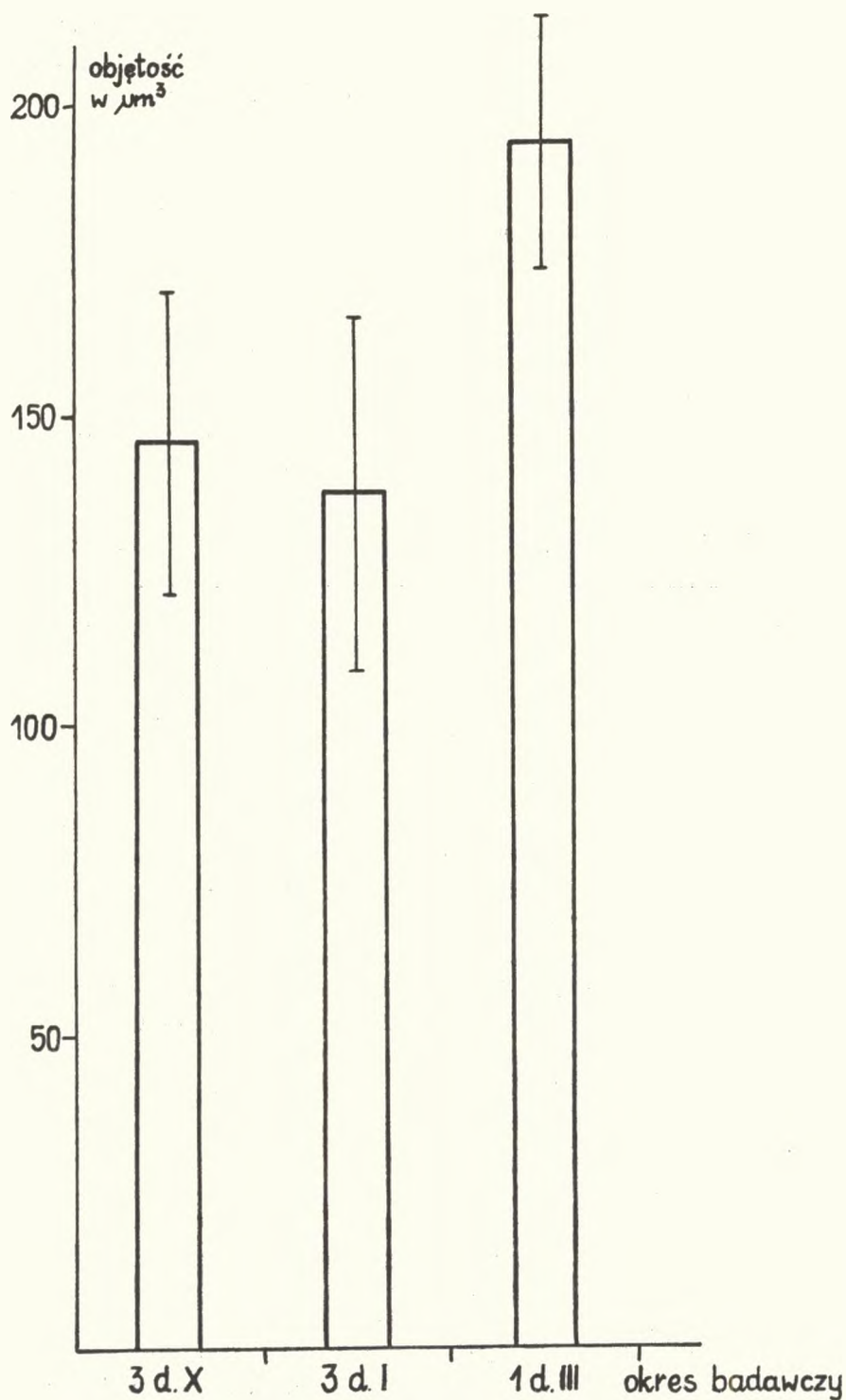
W okresie wędrówek godowych średnia objętość jąder komórkowych wynosi 194,442 μm^3 (tabela 1, ryc. 1). W porównaniu z poprzednim okresem różnica wynosi 57,00 i jest statystycznie istotna, ponieważ wartość „t” równa jest 8,75.

Z powyższych danych wynika, że w czasie snu zimowego aktywność komórek wysp Langerhansa u samców żaby trawnej ulega zmianom. Obniża się w środkowym okresie snu zimowego, aby istotnie wzrosnąć po wyjściu z zimowiska. Ma to niewątpliwie związek z procesami metabolicznymi zachodzącymi w organizmie tego płaza, których tempo wyraźnie się obniża w okresie hibernacji.

Obok zmian objętościowych jąder komórkowych, obserwowano także zmiany w zakresie barwliwości komórek wysp Langerhansa. Najintensywniej komórki te barwiły się w 1 dek. marca tj. w okresie wędrówek na godowisko, najslabiej zaś w środkowym okresie snu zimowego (3 dek. stycznia).

DYSKUSJA

Wyspy trzustkowe Langerhansa są skupiskami komórek nie posiadających przewodów wyprowadzających. U ludzi masa wysp stanowi średnio 2—3% wagi narządu (Pawlikowski 1964). U ludzi otyłych procent ten jest nieco wyższy dochodzący do 3,19%, u szczupłych zaś nieco niższy, równy 2,05% (za: Hartwig 1972). U płazów brak podobnych danych. Wiadomo jednak, że podobnie jak u innych kręgowców tak i u



Ryc. 1. Zmiany objętości komórek wysp Langerhansa w trzustce samca żaby trawnej w okresie hibernacji

płazów hormony wysp Langerhansa mają wpływ na regulację przemiany materii. Ciekawą reakcją wykazują płazy na insulinę i alloxan. Komórki β wysp trzustkowych są uszkodzane przez alloxan, w wyniku czego następuje przecukrczenie krwi. Wyjątkiem jest tutaj *Taricha torosa*. U tego płaza alloxan nie uszkodza komórek wyspowych. Badania na ten temat prowadzili Seiden (1945) i Houssay (1959) stwierdzając, że objawy przecukrczenia krwi pod wpływem alloxanu występują zwykle u żab i ropuch.

Mechanizm działania insuliny na wątrobę ropuch był także przedmiotem badań Kepinova (1938, za Gorbmanem 1964). Stwierdził on, że przedczadanie insuliny przez izolowaną wątrobę ropuch powoduje powstanie, w otrzymanej po przedczadaniu cieczy, takiej samej ilości glukozy co przedczadanej insuliny. Tempo reakcji tworzenia glukozy zależało od pory roku, z której brano ropuchy do eksperymentu i tak, w lecie reakcja w wątrobie ropuch następowała w ciągu pół godziny, podczas gdy w wątrobach ropuch złowionych w zimie — 4 godzinach. Wskazuje to między innymi na istotne różnice w tempie przemiany materii w różnych okresach w ciągu roku.

Porównując otrzymane przeze mnie wyniki, badań stwierdzić także można wyraźne różnice w aktywności wysp Langerhansa w badanych okresach. Jest to oczywiste, biorąc pod uwagę intensywność procesów przemiany materii w okresie snu zimowego i po jego zakończeniu. Należy również przypuszczać, że aktywność ta w miarę nasilania się procesów metabolicznych w okresie aktywnego życia na lądzie płaza będzie rosnąć i trwać na dość wysokim poziomie do okresu wędrówek na zimowisko. Wskazuje na to między innymi większa objętość jąder komórkowych wysp Langerhansa w 3 dek. października ($145,363 \mu\text{m}^3$) niż w 3 dek. stycznia ($137,44 \mu\text{m}^3$).

BIBLIOGRAFIA

1. Diamare V., 1899. *Studii comparativi sulle del Largenhansse de pancreas*. Intern. Monatsschr. Anat. Physiol. 16, 155—209.
2. Foa P. P., Galansino G., and Pozza G., 1957. *Glukagon, a second pancreatic hormone*. Recent Progr. Hormone Res. 13, 473—510.
3. Frye B. E., 1958. *Development of the pancreas in Ambystoma opacum*. Am. J. Anat. 102, 117—139.
4. Frye B. E., 1959. *The development of function in the islets of Langerhans*. Comp. Endocrinol., Proc. Columbia Univ. Symp. Cold Spring Harbor N. Y. 1958, 681—696.
5. Gorbman A., 1964. *Physiology of the Amphibia*. Acad. Press. New York and London. 393—398.
6. Hartwig N., 1972. *Endokrynologia kliniczna*. Warszawa, PZWL.
7. Houssay B. A., 1959. *Comparative physiology of the endocrine pancreas* Comp.

Endocrinol., Proc. Columbia Univ. Symp. Cold Spring Harbor N. Y. 1958. 439—667.

8. Juszczak W., 1974. *Plazy i gady krajowe*. Warszawa. PWN.
9. Palkovits M., 1963. *Quantitativ-histologische Methoden in Verbindung mit der Schilddrüse und ihre vergleichende Bewertung*. Endocrinol. 45, 227—247.
10. Pawlikowski T., 1964. *Podręcznik histologii*. Warszawa PZWL.
11. Seiden G., 1945. *The response of the pancreatic islands of the frog (Rana pipiens) to alloxan*. Anat. Record. 91, 187—197.

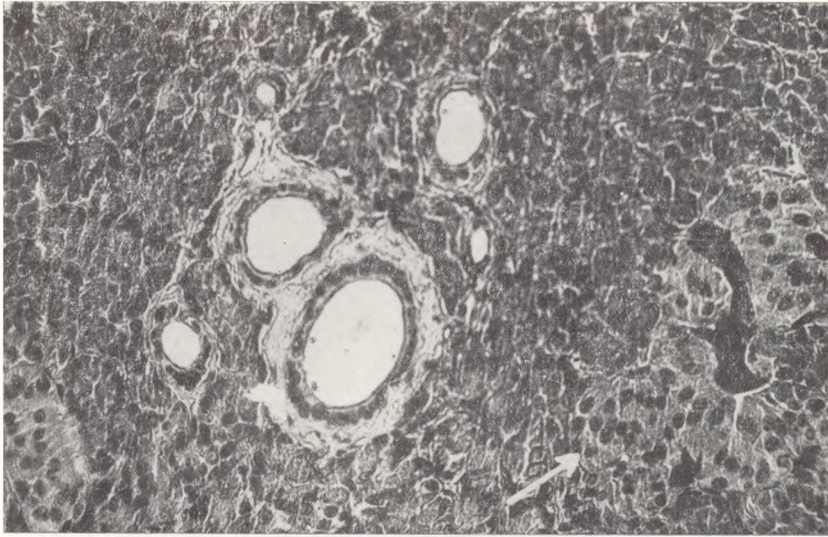
Adam Zyśk

Activity Changes of islands of Langerhans cells in pancreas of grass frog during period of hibernation

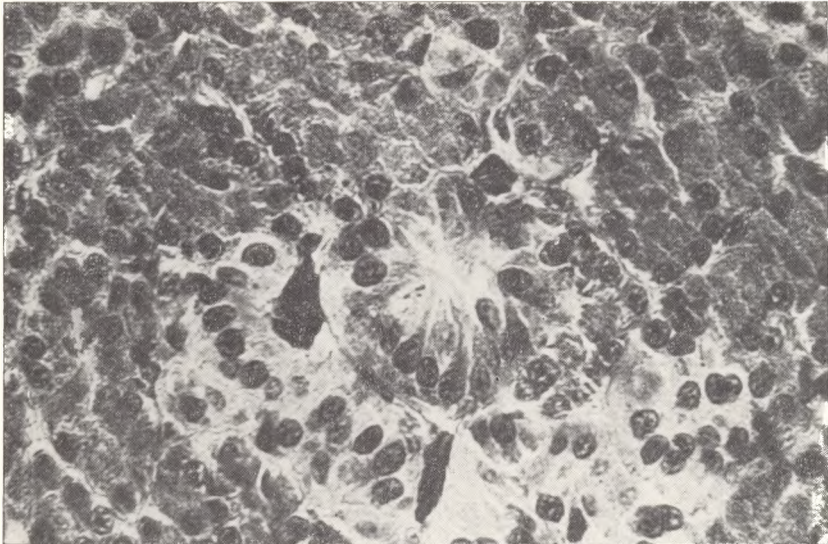
The studies were designed to examine and to compare the volume of nucleuses of cells Langerhans islands in pancreas of grass frog during period of hibernation. With this view, 5 sexual maturity males in regions of Cracov were caught in following examining periods: the 3rd decade of October, the 3rd decade of January and the 1st decade of March.

Using routines histological methods, shreds (5 μm each) of pancreas were obtained. These shreds were subsequently stained using Delafield's hematoxyline with eosine according to Heidenhains Azan method. Nucleus circumference were measured using Palkovit's pattern. Results were confirm statistically using Gosset's test. During experiments were suggested that nucleus circumferences in islands of Langerhans cells are: in the 3rd decade of October — $145.363 \mu\text{m}^3$, in the 3rd decade of January — $137.440 \mu\text{m}^3$, in the 1st decade of March — $194.442 \mu\text{m}^3$. Statistically substantial difference ($t = 8.75$) occurred between the 3rd decade of January and the 1st decade of March.

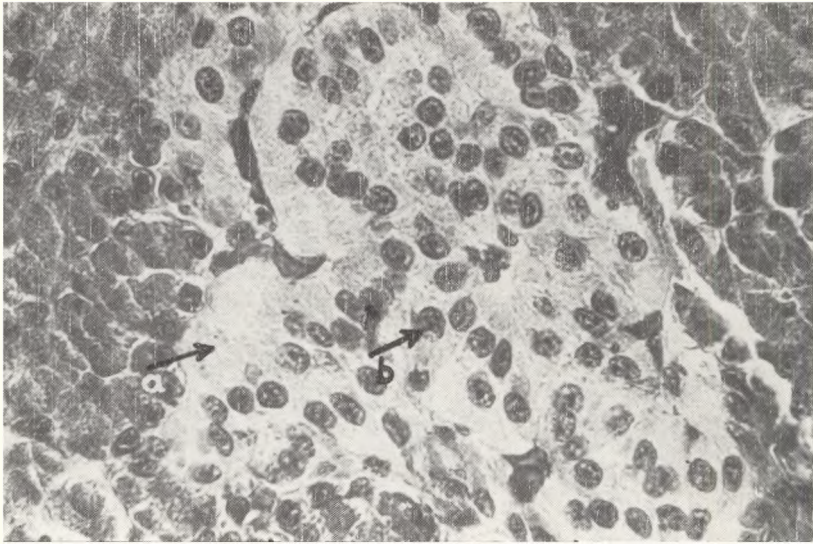
Results demonstrates that islands of Langerhans in grass frog male are subjects to periods changes of activity, which is combined with various rate of physiological processes course in different life periods of this amphibia.



Fot. 1. Fragment przekroju przez trzustkę samca żaby trawnej z widocznymi wyspami Langerhansa. 3 dek. października. Met. barw. azan wg Heidenhaina. Pow. ok. 400 ×



Fot. 2. Fragment przekroju przez trzustkę samca żaby trawnej. 3 dek. stycznia. Met. barw. azan wg Heidenhaina. Pow. ok. 600 ×



Fot. 3. Fragment przekroju przez trzuskę samca żaby trawnej a —
cytoplazma komórek, b — jądra komórkowe. 1 dek. marca. Met. barw.
azan wg Heidenhaina. Pow. ok. 600 ×