

Adam Zyśk

Aktywność tarczycy żaby trawnej *Rana temporaria* (L.) w cyklu rocznym

STRESZCZENIE

Badania aktywności tarczycy dojrzałych płciowo samic i samców żaby trawnej *Rana temporaria* L przeprowadzono w 7 okresach, a to: III dekadzie stycznia, I dekadzie marca, III dekadzie marca, III dekadzie maja, II dekadzie lipca, I dekadzie września i III dekadzie października. Aktywność tarczycy określano na podstawie wysokości komórek nabłonka oraz objętości jąder komórkowych nabłonka pęcherzyków tarczycy. Otrzymane wyniki sprawdzono statystycznie, stosując testy "t" i "F".

Badania wykazały, że maksimum aktywności tarczycy przypada na okres pory godowej, natomiast minimum - na czas początkowego okresu życia aktywnego tego płaza.

WSTĘP

Gruczoł tarczycowy /glandula thyroidea/ płazów był od szeregu lat obiektem badań wielu biologów. Zajmowano się budową tego gruczołu u różnych gatunków płazów /Iwasawa 1967, 1968, 1969/, wpływem hormonów tarczycy na procesy metaboliczne i metamorfozę /Frieden 1961, 1968, Gorbman 1959, 1964/. Badano również regulację aktywności wydzielniczej tarczycy

przez przysadkę mózgową i podwzgórze /Saxen i inni 1956, 1957, Goldberg 1957, Rosenkilde 1964, Śliwiński 1971/.

Wykazano między innymi wpływ temperatury na funkcjonowanie tarczycy żaby trawnej /Ceusters i inni 1978/, zależność między prolaktyną a tyroksyną u *Diemyctylus viridescens* /Gona i inni 1970/ i *Rana catesbeiana* /Crim 1975/. François-Krassowska /1973, 1974, 1978/ zajmowała się budową i aktywnością tarczycy u larw w różnych stadiach rozwoju płazów występujących w Polsce, takich jak: *Rana ridibunda*, *R. lessonae*, *Bombina bombina*, *B. variegata*, *Hyla arborea*, *Pelobates fuscus* i *Rana temporaria*. Badania porównawcze dotyczące morfologii tarczycy *Bombina bombina* i *Hyla arborea* prowadziła Czopkova /1957/.

Na podstawie wyników uzyskanych przez Meisenheimera /1936/, Juszczak /1974/ opracował wykres obrazujący aktywność tarczycy żaby trawnej w cyklu rocznym. Aktywność wydzielnicza pęcherzyków tarczycy została zmierzona zmianami wysokości epithelium w ciągu roku. Wykres nie uwzględnia jednak płci osobników, jak również nie zaznaczono na nim konkretnych wartości pomiarów.

Celem niniejszej pracy było określenie aktywności tarczycy na podstawie pomiarów wysokości komórek nabłonka pęcherzyków tarczycy oraz objętości jąder komórkowych nabłonka samicy i samca *Rana temporaria* w cyklu rocznym.

MATERIAŁ I METODYKA

Badania przeprowadzono w siedmiu - przyjętych za Juszczakiem /1974/ - okresach: III dekadzie stycznia, I dekadzie marca, III dekadzie marca, III dekadzie maja, II dekadzie lipca, I dekadzie września i III dekadzie października. W wymienionych okresach łowiono w okolicach Krakowa po 5 dojrzałych płciowo samic i samców *Rana temporaria*. Po przewiezieniu do pracowni i zabiciu żab przez dekapitację wyci-

nano gruczoł tarczycowy wraz z chrząstką tarczycową i przylegającą okolicą ciała, a następnie utrwalano w płynie Bouina i zatapiano w parafinie.

Z każdej tarczycy wykonano serię skrawków grubości 7 μm , a po naklejeniu ich na szkiełka podstawowe barwiono hematoksyliną Delafielda i eozyną. Preparaty zamykano w balsamie kanadyjskim. Następnie przy pomocy okularu mikrometrycznego wykonano pomiary wysokości komórek nabłonka pęcherzyków tarczycy oraz zmierzono i obliczono objętość jąder komórkowych nabłonka. Objętość jąder obliczono, mierząc oś długą i krótką jąder komórkowych, a następnie stosując wzór Palkovitesa: $V = L^2 B \cdot \frac{\pi}{6} / 1963 /$. Uzyskane wyniki sprawdzono statystycznie stosując test "t" Studenta-Gosseta i "F" analizy wariancji. Różnicę przyjęto za statystycznie istotną, jeżeli wartość "t" była równa lub większa niż 3,3.

WYNIKI BADAŃ

Ściana pęcherzyków tarczycy zbudowana jest z nabłonka jednowarstwowego kostkowego /fot. 1, 2/. Zachowuje ona taki charakter w ciągu całego roku. Szczegółowe wyniki pomiarów wysokości komórek nabłonka tarczycy, jak też objętości jąder komórkowych nabłonka tarczycy samic i samców żaby trawnej w cyklu rocznym przedstawiono w tabelach 1, 2 i na wykresach 1, 2.

Uzyskane wyniki wskazują na wyraźne zmiany aktywności tarczycy żaby trawnej w cyklu rocznym. Maksimum aktywności u obu płci przypada na okres pory godowej, natomiast minimum - na początek życia aktywnego na lądzie. Przebieg zmian wysokości komórek nabłonka tarczycy oraz objętości jąder komórkowych przedstawia się następująco.

Porównując średnią wysokość komórek nabłonka tarczycy w III dekadzie stycznia z III dekadą października stwierdzono powiększenie się rozmiarów komórek w III dek. stycznia,

Tabela 1

Wysokość komórek nabłonka pęcherzyków tarczycy
żaby trawnej w cyklu rocznym

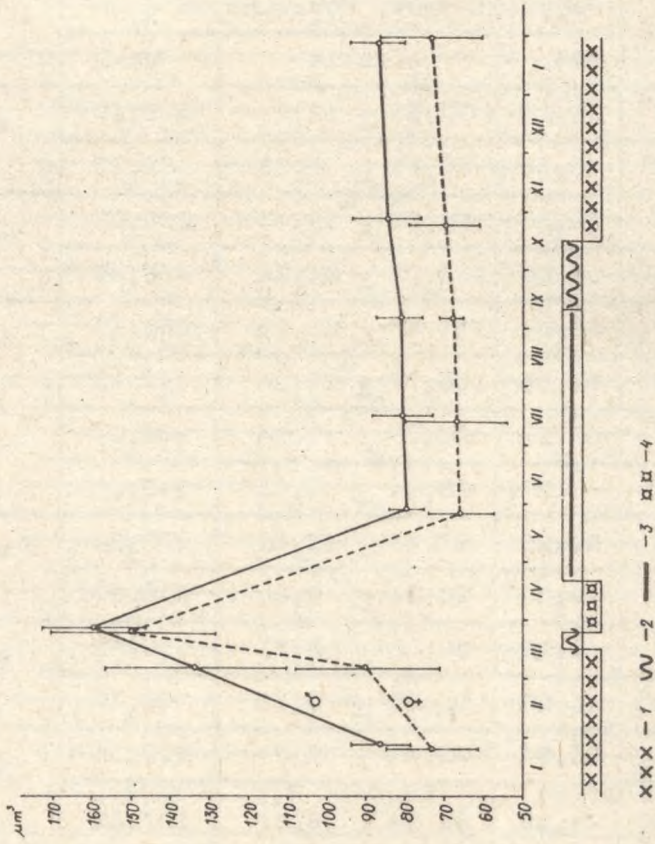
Okres badawczy	Płeć	Wysokość komórek w μm			"t"
		min.	średnie	max.	
3 dekada stycznia	♀	4,51	6,68 \pm 0,41	10,51	8,4
	♂	6,72	9,2 \pm 1,56	12,25	
1 dekada marca	♀	4,52	7,73 \pm 0,57	12,72	18,9
	♂	8,01	12,08 \pm 1,05	16,02	
3 dekada marca	♀	6,25	12,27 \pm 0,67	14,15	13,65
	♂	12,00	15,00 \pm 0,93	17,41	
3 dekada maja	♀	4,12	5,75 \pm 0,28	8,55	3,49
	♂	4,54	5,97 \pm 0,17	9,85	
2 dekada lipca	♀	4,15	5,84 \pm 0,38	9,23	3,1
	♂	4,51	6,08 \pm 0,17	10,14	
1 dekada września	♀	4,63	5,93 \pm 0,13	9,19	2,53
	♂	4,72	6,25 \pm 0,54	11,28	
3 dekada paździer- nika	♀	3,6	6,11 \pm 0,2	8,51	4,45
	♂	4,25	6,6 \pm 0,58	10,01	

Tabela 2

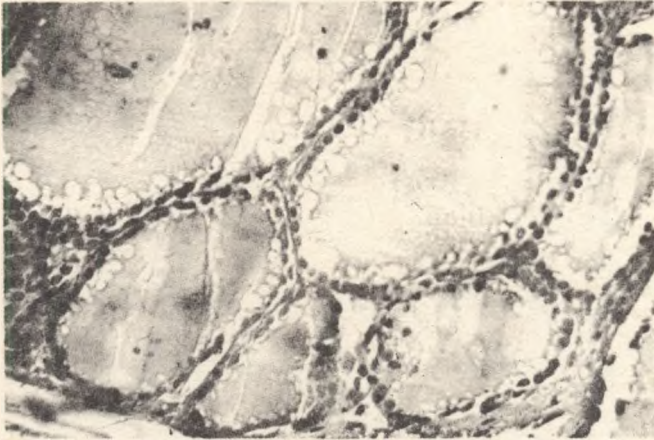
Objętość jąder komórek nabłonka pęcherzyków tarczycy
żaby trawnej w cyklu rocznym

Okres badawczy	Płeć	Objętość jąder komórkowych w μm^3			"t"
		min.	średnie	max.	
3 dekada stycznia	♀	31,25	73,38 \pm 12,2	176,19	4,66
	♂	46,15	86,76 \pm 7,68	192,33	
1 dekada marca	♀	39,35	90,08 \pm 19,43	210,05	7,1
	♂	55,10	134,20 \pm 24,34	356,49	
3 dekada marca	♀	80,45	151,67 \pm 21,25	280,25	1,78
	♂	82,15	160,57 \pm 13,14	395,12	
3 dekada maja	♀	39,15	66,77 \pm 9,54	165,24	6,2
	♂	48,20	79,24 \pm 3,43	145,15	
2 dekada lipca	♀	32,25	67,14 \pm 13,49	170,24	4,16
	♂	49,25	80,23 \pm 8,04	150,15	
1 dekada września	♀	41,15	68,02 \pm 3,33	130,41	9,0
	♂	46,16	81,36 \pm 6,71	189,25	
3 dekada paździer- nika	♀	25,64	70,64 \pm 9,7	130,76	5,57
	♂	43,39	85,14 \pm 8,67	157,40	

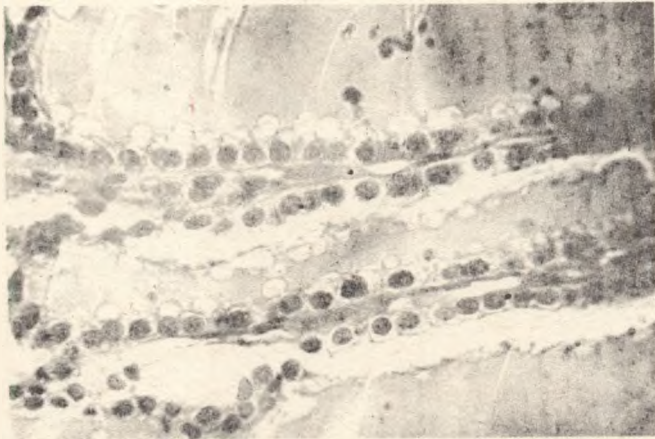
Objętość jąder komórkowych komórek nabłonka pęcherzyków tarczycy żaby trawnej w cyklu rocznym. Ekofenogram wg Juszczyka /1974/



- XXX - 1 W - 2 — 3 II - 4
- 1 - pobyt w wodzie
 - 2 - wędrówki i okres przejściowy między życiem aktywnym a snem zimowym i odwrotnie
 - 3 - pobyt na lądzie
 - 4 - przeciętny okres składania jaj

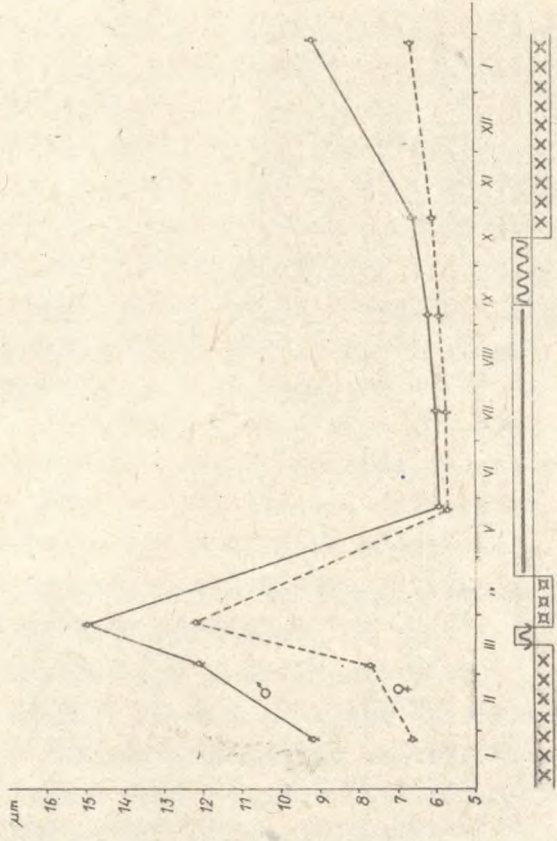


F o t. 1. Fragment przekroju przez tarczycę samca żaby trawnej. III dek. października. Barw. hematoksyliną Delafielda, eozyną. Pow. ok. x 500



F o t. 2. Fragment przekroju przez tarczycę samca żaby trawnej. III dek. października. Barw. hematoksyliną Delafielda, eozyną. Pow. ok. x 850

Wysokość komórki nabłonka pęcherzyków tarczycy żaby trawnej w cyklu rocznym. Ekofenogram wg Juszczyka /1974/. Oznaczenia jak na wykresie 1.



tak u samic, jak i u samców. Wzrost ten jest znaczny i statystycznie istotny /samice "t" = 6,3, samce - "t" = 8,12/. W III dekadzie stycznia wzrasta również w porównaniu z III dekadą października objętość jąder komórkowych, jest to jednak wzrost niewielki, statystycznie nieistotny /samice - "t" = 0,88, samce - "t" = 0,7/. W I dekadzie marca obserwuje się daleki wzrost wysokości komórek nabłonka. W porównaniu z III dekadą stycznia jest on statystycznie istotny /samice - "t" = 7,13, samce - "t" = 8,00/. W tym okresie wzrasta również objętość jąder komórkowych. Wzrost jest znaczny i statystycznie istotny /samice - "t" = 3,65, samce - "t" = 9,32/.

Komórki nabłonka tarczycy osiągają największe rozmiary w III dekadzie marca. U samic średnia wysokość tych komórek wynosi 12,27 μm i wyraźnie wzrasta w porównaniu z I dekadą marca /"t" = 26,7/, zaś u samców średnia wysokość komórek nabłonka wynosi 15,00 μm . Jest to - w porównaniu z poprzednim okresem - znaczny i istotny wzrost /"t" = 11,23/. Istotny jest także wzrost objętości jąder komórkowych w porównaniu z I dek. marca, tak u samic /"t" = 8,88/, jak i u samców /"t" = 4,78/. III dekada maja to okres w którym komórki nabłonka tarczycy wykazują minimalne rozmiary. W porównaniu ze stanem z III dekady marca różnice są statystycznie istotne /samice - "t" = 30,18, samce - "t" = 50,16/. Maleje także objętość jąder komórkowych, a w porównaniu z III dekadą marca spadek jest duży i statystycznie istotny /samice - "t" = 18,29, samce - "t" = 30,12/. Podobny stan komórek nabłonka tarczycy i objętość jąder komórkowych obserwuje się w II dekadzie lipca, tak u samic, jak i u samców. Różnica w wysokości komórek, w porównaniu z poprzednim okresem jest u samic statystycznie nieistotna /"t" = 1,01/, natomiast u samców statystycznie istotna /"t" = 2,75/. Niewielki wzrost objętości jąder komórkowych u obu płci jest statystycznie nieistotny /samice - "t" = 0,1, samce - "t" = 0,57/. W I dekadzie września następuje niewielki i nieistotny statystycznie wzrost wysokości komórek nabłonka /samice - "t" = 1,28,

samce - "t" = 1,21/. Podobnie nieznacznie wzrasta objętość jąder komórkowych /samice - "t" = 0,31, samce - "t" = 0,54/. W III dekadzie października obserwuje się powolny wzrost rozmiarów komórek nabłonka tarczycy. U samic jest on statystycznie istotny /"t" = 4,45/, a u samców nieistotny /"t" = 2,33/. Wzrost objętości jąder komórkowych u obu płci jest niewielki i nieistotny /samice - "t" = 1,28, samce - "t" = 1,73/.

W trakcie porównywania wysokości komórek nabłonka pęcherzyków tarczycy w badanych okresach analiza wariancji wykazała, że przy "F" równym lub większym od 3,53 dla $p = 0,01$ i $6/28$ stopniach swobody, różnice tak w przypadku samic, jak i samców są statystycznie wysoce istotne, ponieważ dla samic wartość "F" jest równa 156,12, a dla samców "F" = 104,73.

Analiza wariancji w przypadku pomiarów objętości jąder komórkowych wykazała, że dla samic i samców różnice w badanych okresach są statystycznie istotne. Dla samic wartość "F" = 24,71, a dla samców "F" = 36,6.

DYSKUSJA

Wyniki wieloletnich badań tarczycy u różnych gatunków zwierząt pozwoliły na stwierdzenie, że jest to jeden z gruczołów dokrewnych, którego hormony mają duże znaczenie dla prawidłowego przebiegu szeregu procesów metabolicznych ustroju. Równocześnie starano się znaleźć odpowiednie kryterium oznaczania aktywności tego gruczołu. Wśród najbardziej znanych i stosowanych od lat metod oznaczania aktywności tarczycy było wykonanie pomiarów wysokości nabłonka pęcherzyków tarczycy. Przegląd innych metod podaje Skowerska /1965/, która wymienia prace wielu autorów zajmujących się pomiarami aktywności tarczycy, m. in. przy pomocy: badań struktury cytoplazmy, charakteru i barwności koloidu /gęstość, stopień wakuolizacji i wypełnienia pęcherzyków/, składu chemicznego i enzymatycznego, ilości, wielkości i kształtu pęcherzy-

ków, ukrwienia gruczołu oraz ilości tkanki łącznej, rozmieszczenia i wielkości mitochondriów, pomiarów objętości jądra komórkowego itp. W świetle powyższych analiz wydaje się, iż badania aktywności tarczycy metodami pomiarów wysokości nabłonka i objętości jąder komórkowych nabłonka pęcherzyków tarczycy są wystarczająco precyzyjne.

Meisenheimer opublikował w 1936 r. wyniki badań aktywności tarczycy żaby trawnej w cyklu rocznym, mierzonej wysokością nabłonka. Na ich podstawie W. Juszczyk opracował w 1974 r. wykres zmiany funkcji tarczycy żaby trawnej w cyklu rocznym uzupełniony ekofenogramem. Na wykresie nie zaznaczono płci badanych osobników, brak też konkretnych wartości pomiarów epithelium. Wykres sugeruje, że najwyższa aktywność tarczycy żaby trawnej przypada na okres pory godowej, natomiast minimum efektywności tarczycy obejmuje okres od końca października do końca lutego. W tym też czasie aktywność tarczycy utrzymuje się na mniej więcej tym samym minimalnym poziomie.

Wyniki moich badań nie potwierdzają tych danych. Czas od III dekady października do I dekady marca nie jest okresem "spoczynkowym", i to zarówno w przypadku samic, jak i samców żaby trawnej. Wysokość komórek nabłonka pęcherzyków tarczycy w tym czasie rośnie, co szczególnie wyraźnie widać u samców, u których w porównaniu z III dekadą października /6,6 μm / średnia wysokość nabłonka w I dekadzie marca wzrasta dwukrotnie /12,08 μm /. U samic różnice nie są tak duże, choć także widać wyraźnie wzrost wysokości nabłonka od średnio 6,11 μm w III dekadzie października, do średnio 7,73 μm w I dekadzie marca.

Potwierdzeniem wzrostu aktywności tarczycy w badanych okresach jest wzrost objętości jąder komórkowych nabłonka jako kryterium tej aktywności. Podczas gdy w III dekadzie października średnia objętość jąder komórkowych nabłonka pęcherzyków tarczycy samic wynosi 70,64 μm^3 , to w I dekadzie marca wzrasta do średnio 90,08 μm^3 . Jeszcze większe różnice

obserwuje się u samców, u których średnia objętość jąder komórkowych nabłonka w III dekadzie października wynosi $85,14 \mu\text{m}^3$, a w III dekadzie marca wzrasta do $134,2 \mu\text{m}^3$.

Wzrost aktywności tarczycy w okresie snu zimowego, a szczególnie pod koniec hibernacji, należy wiązać z trwającymi w tym okresie procesami oogenezy i spermatogenezy, jak też z budzeniem się żab w I dekadzie marca.

Maksimum aktywności tarczycy tak samic, jak i samców żaby trawnej przypada na okres pory godowej. W tym przypadku wyniki uzyskane w trakcie moich badań są zgodne z podawanymi przez Meisenheimera /1936/. Jednak minimum aktywności tarczycy żaby trawnej przypada - na podstawie uzyskanych przeze mnie wyników - na początkowy okres życia aktywnego na lądzie /III dekada maja/, podczas gdy według Meisenheimera, okres najmniejszej aktywności tarczycy ma miejsce w okresie snu zimowego.

Od lipca do stycznia następuje powolny - a od I dekady marca szybki - wzrost aktywności tarczycy, której maksymalna aktywność tak u samic, jak i u samców przypada na III dekadę marca.

Porównując uzyskane wyniki badań obserwuje się większą aktywność tarczycy u samców niż u samic, i to w trakcie całego cyklu rocznego żaby trawnej.

Badania nad aktywnością tarczycy prowadził także Iwasawa /1968/ na kilku gatunkach płazów występujących w Japonii. Stwierdził on, że u niektórych gatunków płazów, takich jak *Hyla arborea japonica*, *Rhacophorus buergeri* czy *Rana ornativentris*, aktywność tarczycy wyraźnie wzrasta w okresie pory godowej. Równocześnie jednak u takich gatunków płazów, jak *Rana catesbeiana*, *Bufo japonicus*, *Rhacophorus arboreus* pora godowa nie wiąże się ze wzrostem aktywności tarczycy, której maksimum przypada na inne okresy życia aktywnego tych płazów.

Tak więc można powiedzieć, że hormony tarczycy biorą udział w wielu procesach życiowych organizmu płazów, wpływa-

jąc w sposób istotny na przebieg przemian metabolicznych w okresie całego cyklu rocznego ich życia.

Wyniki moich badań wykazują, że tarczycza żaby trawnej, tak samic, jak i samców, wykazuje aktywność także w okresie senu zimowego.

BIBLIOGRAFIA

- Ceusters R., U. M. Darvas and E. R. Köhn 1978. Difference in thyroid function between male and female frogs /*Rana temporaria* L./ with increasing temperature. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 36, s. 598 - 603.
- Crim J. W. 1975. Prolactin-thyroxine antagonism and the metamorphosis of visual pigments in *Rana catesbeiana* tadpoles. *J. Zool.*, 192, s. 355 - 362.
- Czopkova G. 1957. Porównanie tarczycy rzekotki, *Hyla arborea* /L./ z tarczycą kumaka nizinnego, *Bombina bombina* /L./. *Przegląd Zool.*, I, s. 28 - 30.
- D'Angelo, S. A. 1958. Role of the hypothalamus in pituitary-thyroid interplay. *J. Endocrinol.*, 17, s. 286 - 299.
- François-Krassowska A. 1973. The structure of the thyroid gland in *Rana ridibunda* Pall. and *Rana lessonae* Cam. *Bull. Acad. Polon. Sci., Ser. Biol.*, 21, s. 357 - 363.
- François-Krassowska A. 1974. The structure of thyroid gland in the fire-bellied toad /*Bombina bombina* L./ and the yellow-bellied toad /*Bombina variegata* L./. *Bull. Acad. Polon. Sci., Ser. Biol.*, 22, s. 531 - 537.
- François-Krassowska A. 1978. The structure of the thyroid gland in ontogenetic development of certain anurans. *Acta Biol. Crac. Ser. Zool.*, XXI, s. 1 - 44.
- Frieden E. 1961. Biochemical adaptation and anuran metamorphosis. *Amer. Zool.*, 1, s. 115 - 149.
- Frieden E. 1968. Biochemistry of amphibian metamorphosis. In *Metamorphosis*, ed. W. Etkin and L. Gillert. North-Holland Publishing Comp., Amsterdam.
- Goldberg R. C., Wolff J., Greep R. C. 1957. Studies on the nature of the Thyroid-pituitary interrelationship. *Endocrinology* 60, 38.
- Gona A. G., Periman T. and Etkin W. 1970. Prolactin-thyroid interaction in the newt *Diemyctylus viridescens*. *J. Endocr.*, 48, s. 585 - 590.
- Gorbman A. 1959. Problems in the comparative morphology and physiology of the vertebrate thyroid gland. In: *Comp. Endocrinol.*, ed. A. Gorbman, J. Wiley and Sons. Inc., New York.

- Gorbman A. 1964. Endocrinology of the amphibia. III. Thyroid gland Physiology of the amphibia. /J. A. Moore ed./, Academic Press, New York and London. s. 384 - 391.
- Iwasawa H. 1967. Morphology of the thyroid gland in the thad Bufo bufo japonicus. Sci. Rep. Tohoku Univ. ser. IV. /biol./ 33, s. 419 - 428.
- Iwasawa H. 1968. Seasonal change of thyroid activity in anurans. Sci. Rep. Niigata Univ., Ser. D /Biol./, 5, s. 19 - 23.
- Iwasawa H. 1969. Morphology of the thyroid gland in the Bull frog Rana catesbeiana. Sci. Rep. Niigata Univ. Ser. B /Biol./ 6, s. 129 - 139.
- Juszczak W. 1959. The development of the reproductive organs of the female common frog /Rana temporaria L./ in the yearly cycle. Ann. UCMS Lublin, 14, s. 169 - 231.
- Juszczak W. 1974. Płazy i gady krajowe, Warszawa, PWN, s. 1 - 722.
- Meisenheimer M. 1936. Die jahrescyclischen Veränderungen der Schilddrüse von Rana temporaria. Z. wiss. Zool. 148, s. 261 - 297.
- Palkowits M. 1963. Quantitativ-histologische Methoden in Verbindung mit der Schilddrüse und ihre vergleichende Bewertung. Endocrinol. 45, 227 - 247.
- Rosenkilde P. 1964. Regulation of thyroid function in the toad Bufo bufo. Gen. Comp. Endocrinol. 4, s. 74 - 81.
- Saxen L., Saxen E. and Toivonen S. 1956. Cytology of the anterior pituitary and thyroid function. Ann. Med. Exper. Fenn. 34, s. 34 - 47.
- Saxen L., Saxen E., Toivonen S. and Salimaki K. 1957. Quantitative investigation on the anterior pituitary thyroid mechanism during frog metamorphosis. Endocrinology. 61, s. 35 - 44.
- Skowerska M. 1965. Dynamizm nukleoplazmatyczny komórki tarczowej w różnych jej stanach czynnościowych. Przegl. Zool. IX: s. 113 - 116.
- Śliwiński K. 1971. Filogeneza i ewolucja funkcji gruczołu tarczowego. Przegl. Zool. XV, s. 130 - 142.

Zyék Adam

ACTIVITY OF THE THYROID GLAND OF THE COMMON FROG
/RANA TEMPORARIA L./ IN THE ANNUAL CYCLE

SUMMARY

Studies on the activity of the thyroid gland in the sexually mature female and male common frogs, *Rana temporaria* /L./, were carried out during 7 time periods, namely: 3rd decade of January, 1st decade of March, 3rd decade of March, 3rd decade of May, 2nd decade of July, 1st decade of September, and 3rd decade of October. The activity of the thyroid gland was determined according to the height of the epithelium cells of the thyroid gland vesicles and according to the volume of the cell nuclei of that epithelium. The results obtained were statisticall verified using the "t" and "F" tests.

It has been shown that the maximum of the thyroid gland activity falls on the breeding period, while its minimum - on the initial period of the land life of that amphibian.