

## Geschlechtsabhängige Grössenunterschiede der Mitochondrien in der Zona fasciculata der Nebennierenrinde der Ratte

Mit der Geschlechtsreife entwickelt sich in der Nebennierenrinde von Sprague-Dawley-Ratten in der äusseren Zona fasciculata ein Geschlechtsdimorphismus, der in einer unterschiedlichen Cytoplasmastruktur und einer relativen Zellhypertrophie bei weiblichen Tieren besteht (DHOM et al.<sup>1</sup>). Ultrastrukturell unterscheiden sich Weibchen von Männchen durch Kernvergrößerung und kleindisperse Liposome. Darüber hinaus besteht der visuelle

eingeteilt werden. Eine Umsetzung des lichtmikroskopischen Mitochondrienbildes an Semidünnschnitten in elektronisch erfassbare Grautöne war nicht möglich. Aus diesem Grunde wurden elektronenmikroskopisch (Glutaraldehyd-OsO<sub>4</sub>-Immersionfixation; Araldit; Zeiss EM 9a) 3400fach vergrösserte Fotografien hergestellt, aus denen jeweils ein 3 × 3 cm grosser Bereich für die Untersuchung ausgewählt wurde. Die Seiten des Quadrates

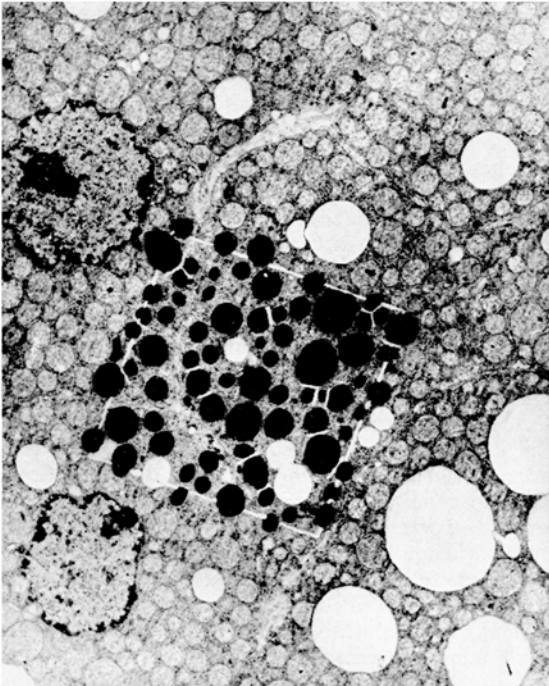


Fig. 1. Äussere Zona fasciculata einer männlichen Ratte mit markiertem Bildausschnitt. Vergrösserung 3400fach.

Eindruck, dass die weibliche Fasciculatazelle durchschnittlich grössere Mitochondrien besitzt (MÄUSLE<sup>2</sup>). Da die mit Hilfe eines Teilchengrössenanalysators erzielten Rückstandskennlinien zwar auf Unterschiede hinwiesen, jedoch keine brauchbaren Parameter für eine Signifikanzberechnung ergaben (MÄUSLE<sup>3</sup>), wurden entsprechende Informationen von einem elektronischen Bildanalysator erhofft.

**Material und Methodik.** Bei 4 weiblichen und 4 männlichen 8 Wochen alten Sprague-Dawley-Ratten wurde eine Klassifizierung der Mitochondrien unter Zuhilfenahme des elektronischen Bildanalysators Quantimet 720 (Metals Research) durchgeführt. Mit Hilfe einer Fernsehkamera werden dabei Bilder in eine grösstmögliche Zahl von Rasterpunkten (RP) umgewandelt. Sind auf den Bildern Partikel von unterschiedlichen, in sich einheitlichen Grautönen vorhanden, so können auf Grund der Logik dieses Gerätes die Anzahl, die Fläche und die Länge dieser Partikel gezählt und in vorgegebene Klassen

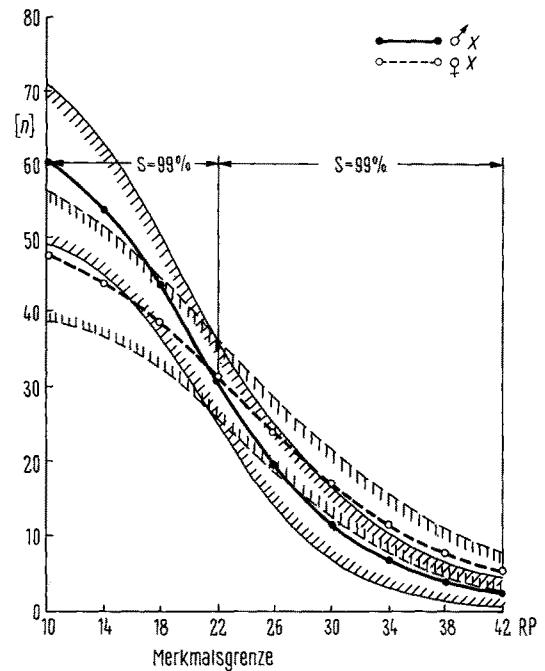


Fig. 2. Verlauf der absoluten Häufigkeit der  $x$ -Durchmesser der Mitochondrien bei Männchen und Weibchen. 1 Rasterpunkt (RP) = 0,0353  $\mu$ m.

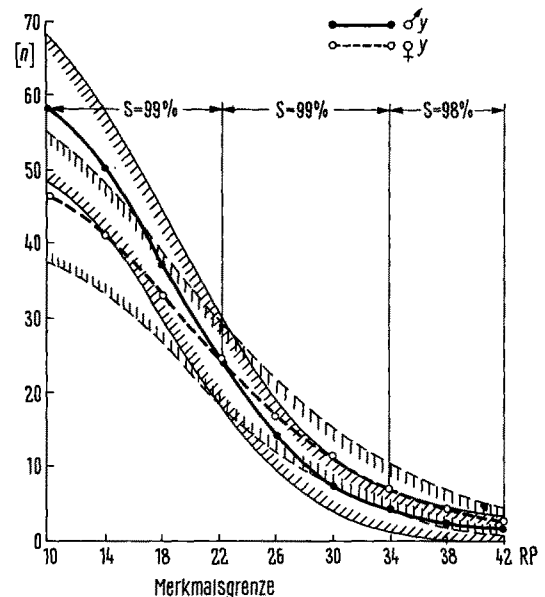


Fig. 3. Verlauf der absoluten Häufigkeit der  $y$ -Durchmesser der Mitochondrien bei Männchen und Weibchen. 1 RP = 0,0353  $\mu$ m.

<sup>1</sup> G. DHOM, H. B. V. SEEBACH und G. STEPHAN, Z. Zellforsch., 116, 120 (1971).

<sup>2</sup> E. MÄUSLE, Z. Zellforsch., 116, 136 (1971).

<sup>3</sup> E. MÄUSLE, Symp. dt. Ges. Endokrin., 16, 254 (1970).

wurden parallel zu den  $x$ - bzw.  $y$ -Achsen der Fasciculatasäulen gelegt. Zur eindeutigen Entdeckung der Mitochondrien durch das Quantimet 720 wurden diese schwarz markiert und zwischen benachbarte Mitochondrien weisse Grenzlinien gezogen (Figur 1).

Als Stichproben wurden 44 Bildausschnitte männlicher und 45 Bildausschnitte weiblicher Tiere ausgezählt. Es wurden 9 Grössenklassen gewählt, deren Breite 4 RP betrug, 10 RP stellten den unteren Grenzwert dar. Partikel mit einem kleineren Durchmesser wurden ausgeschlossen. 1 RP =  $0,0353 \mu\text{m}$ . Aus den an den Grenzen anfallenden Einzelwerten wurden die Mittelwerte  $\bar{x}_n$  bzw.  $\bar{y}_n$  und die zugehörigen Standardabweichungen  $s_n$  errechnet und über die Klassengrenzwerte aufgetragen. Die Sicherheit,  $S'$  wurde mit dem Student- $t$ -Test geprüft.

**Ergebnisse.** Insgesamt wurden 4593 Mitochondrienanschnitte erfasst. Die Mitochondrien sind ellipsoid deformiert. Bei Männchen überwiegen die Mitochondrien kleiner als  $0,78 \mu\text{m}$  (22 RP), bei Weibchen hingegen die Partikel grösser als  $0,78 \mu\text{m}$  (Figuren 2 und 3).  $p = 0,0005$  für die  $x$ -Achse;  $p = 0,01-0,0005$  für die  $y$ -Achse. 50% aller gemessenen männlichen Mitochondrien besitzen eine Einzelfläche  $< 0,434 \mu\text{m}^2$ , während 50% der weiblichen eine Einzelfläche  $< 0,577 \mu\text{m}^2$  aufweisen.

**Besprechung.** Quantitative Bestimmungen der Grössenverhältnisse der Mitochondrien in der äusseren Zona fasciculata der Rattennebenniere zeigen eine statistisch gesicherte Geschlechtsdifferenz und bestätigen den visuel-

len Eindruck. Weiterhin zeigt das Zahlenmaterial, dass die Mitochondrien ellipsoid deformiert und der Achse der Fasciculatasäulen entsprechend ausgerichtet sind. Da die Mitochondrien in enger Beziehung zur Steroidsynthese stehen (MAREK et al.<sup>4</sup>), trägt ihr geschlechtsdifferentes Verhalten dazu bei, den Geschlechtsdimorphismus funktionell zu interpretieren.

**Summary.** Diameters of mitochondria of the external zona fasciculata of the adrenal cortex of 4 female and 4 male Sprague-Dawley-rats are determined with the image analyzing computer Quantimet 720. On the average females have significantly larger mitochondria. The mitochondria show an ellipsoid deformation, the long axes are orientated parallel to the columns of the zona fasciculata.

E. MÄUSLE und M. FRÖHLKE

Pathologisches Institut der Universität des Saarlandes,  
D-665 Homburg (Saar), und Neunkircher  
Eisenwerke A.G., Neunkirchen (Deutschland),  
18. November 1970.

<sup>4</sup> J. MAREK, W. THOENES und K. MOTLIK, Naturwissenschaften 57, 250 (1970).

## Lack of Pituitary Involvement in the Cold-Induced Hyperglycemia of the Killifish, *Fundulus heteroclitus*

When acclimated to temperatures near freezing, many, but not all, teleosts physiologically respond by elevating the concentration of glucose in their blood<sup>1</sup>. This cold-induced hyperglycemia has been most thoroughly studied in the killifish, *Fundulus heteroclitus*, and in the toadfish, *Opsanus tau*. Studies on intact killifish showed that acclimation to  $-1.5^\circ\text{C}$  in salt water increased the concentration of serum glucose by as much as sixfold and that this increase was due to a breakdown of hepatic glycogen<sup>1,2</sup>. Similarly, a hyperglycemic state developed in cold-acclimated toadfish at temperatures near freezing<sup>3,4</sup> and, although no data were available, the speculation was advanced that the pituitary gland might be responsible for the hyperglycemic response<sup>4</sup>.

Indeed, there is evidence that the pituitary of teleosts is involved in blood glucose regulation. FALKMER and MATTY<sup>5</sup> observed a slight hypoglycemia in hypophysectomized *Cottus scorpius* and MATTY<sup>6</sup> found that injections of growth hormone elevated serum glucose in intact *Cottus*. Furthermore, pituitary extracts from the fish, *Lucioperca lucioperca*, produced diabetogenic activity in fish, toads, chickens, dogs, cows and man<sup>7</sup>. In addition, even though both hypophysectomized and intact carp had the same concentrations of serum glucose, when injections of epinephrine were administered, serum glucose rose in intact carp but declined slightly in hypophysectomized fish<sup>8</sup>.

Endocrine glands under the direct control of the pituitary are also known to affect blood sugar levels in teleosts. For example, injections of hydrocortisone or ACTH are reported to elevate blood glucose levels in a variety of fishes<sup>9-12</sup>, thus implicating the pituitary-interrenal axis in blood glucose regulation. The thyroid, however, which is also under pituitary control, is prob-

ably not important in blood sugar regulation in teleosts since thyroxine injections had no effect on blood sugar levels in *Cyprinus* and *Tinca*<sup>13</sup> and had little effect on liver glycogen levels in *Fundulus heteroclitus*<sup>14</sup>. Therefore, since the pituitary and some glands under the direct control of the pituitary are known to be involved in blood glucose regulation in teleosts, it is reasonable to suspect an involvement of the pituitary in the cold-induced hyperglycemia of fish.

To determine the role of the pituitary in the cold-induced hyperglycemia of *Fundulus heteroclitus*, serum glucose concentrations were compared in hypophysectomized and intact adult, male killifish acclimated to  $20^\circ\text{C}$  and  $-1.5^\circ\text{C}$  in salt water. Fish hypophysectomized according to the procedure of PICKFORD<sup>15</sup> were kindly supplied by Prof. G. E. PICKFORD. These fish were

<sup>1</sup> B. L. UMMINGER, J. exp. Zool. 172, 409 (1969).

<sup>2</sup> B. L. UMMINGER, J. exp. Zool. 173, 159 (1970).

<sup>3</sup> P. F. NACE, M. L. MOULE and J. E. SCHUH, Can. J. Physiol. Pharmacol. 42, 225 (1964).

<sup>4</sup> M. A. SILVER and W. D. SHENK, Chesapeake Sci. 9, 1 (1968).

<sup>5</sup> S. FALKMER and A. J. MATTY, Acta Soc. Med. upsal. 71, 156 (1966).

<sup>6</sup> A. J. MATTY, Nature, Lond. 195, 506 (1962).

<sup>7</sup> B. A. HOUSSAY and A. BIASOTTI, Compt. r. Soc. Biol., Paris 107, 733 (1931).

<sup>8</sup> F. MAZEAUD, Compt. r. Soc. Biol., Paris 163, 24 (1969).

<sup>9</sup> P. F. NACE, Biol. Bull. 109, 366 (1955).

<sup>10</sup> M. OGURI and P. F. NACE, Chesapeake Sci. 7, 198 (1966).

<sup>11</sup> T. FARKAS, Prog. Biochem. Pharmacol. 3, 314 (1967).

<sup>12</sup> D. G. BUTLER, Gen. comp. Endocrin. 10, 85 (1968).

<sup>13</sup> H. VORHAUER, Biochem. Z. 296, 90 (1938).

<sup>14</sup> G. E. PICKFORD, Anat. Rec. 112, 429 (1952).

<sup>15</sup> G. E. PICKFORD, Bull. Bingham Oceanogr. Coll. 14 (2), 5 (1953).