

ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN — POLONIA

VOL. XXXIV, 2

SECTIO D

1979

Zakład Anatomii Patologicznej. Instytut Patologii Klinicznej. Wydział Lekarski.
Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: prof. dr med. Marian Rozynek

Franciszek WOŹNIAK

**Badania morfologiczne i histochemiczne gonady męskiej szczura białego
pod wpływem przewlekłego stosowania małych dawek Lindanu**

Морфологические и гистохимические исследования мужской гонады белой крысы
под влиянием длительного применения малых доз Линдана

Morphological and Histochemical Examinations of the White Rat Testis after
Long-term Administration of Low Doses of Lindan

Spośród licznych, często wielokierunkowych, badań nad działaniem pestycydów z różnych grup chemicznych na organizmy żywe względnie najmniej informacji zebrano na temat ich wpływu na gonady, a szczególnie na gonadę męską.

Gonady męskie odznaczają się znaczną wrażliwością na szkodliwe bodźce środowiska wewnętrznego i przede wszystkim zewnętrznego. Wyrazem tej wrażliwości są dość często spotykane zmiany morfologiczne w gonadach, a szczególnie w nabłonku nasieniotwórczym i w komórkach gruczołu śródmiąższowego Leydiga, co łączy się z klinicznym osłabieniem ich funkcji. Zmiany zwyrodnieniowe różnego stopnia i rodzaju w nabłonku nasieniotwórczym gonady męskiej jak również zmiany w komórkach gruczołu śródmiąższowego Leydiga zostały już wielokrotnie opisane w przebiegu działania szkodliwego na gonady, często selektywnego, różnych związków chemicznych (3, 4, 9, 10, 21, 22, 23, 24), używanych nawet niekiedy do wywołania czasowej niepłodności u osobników męskich. Szkodliwe działanie na gonady męskie wykazywały niejednokrotnie leki, niekiedy już w dawkach terapeutycznych (1, 18, 19, 21) i środki do konserwacji żywności (23, 24). Wszystkie te związki chemiczne nazywane są czynnikami antyspermatogenicznymi. W ostatnich latach do tych czynników zalicza się również pestycydy z różnych grup chemicznych (związki chloroorganiczne, fosforoorganiczne, karbaminiany). Sądzi się (8, 16, 20), iż u mężczyzn stykających się przez długi okres z pestycydami z racji swego zawodu może nastąpić spadek aktywności seksualnej, spowodowany prawdopodobnie nie tylko uszkodzeniem centralnego i obwodowego układu nerwowego (hamowanie działania acetylocholinesterazy), ale także bezpośrednim uszkodzeniem gonady (21).

Celem pracy jest próba doświadczalnego stwierdzenia na materiale zwierzęcym, czy przewlekłe stosowanie małych dawek — 1/15 LD₅₀ Lindanu (izomeru sześciocykloheksanu — pestycydu z grupy związków chloroorganicznych) może prowadzić do zmian histopatologicznych i histochemicznych w gonadzie męskiej szczura białego

oraz ewentualne bliższe przesłedzenie i określenie tych zmian, zwłaszcza, iż piśmienictwo światowe, a szczególnie polskie niewiele ma prac na ten temat. Ponadto sprawdzono zdolności regeneracyjne nabłonka nasiennego i komórek gruczolu śródmiąższowego Leydiga po przerwaniu kontaktu z Lindanem.

MATERIAŁ I METODYKA BADAŃ

Do badań użyto 40 szczurów białych płci męskiej rasy Wistar, genetycznie jednorodnych, „klinicznie zdrowych”, w 2 grupach wiekowych: starszej i młodszej. Zwierzęta podzielono na 4 grupy, z czego 3 były doświadczalne (I, II, III), a jedna kontrolna (IV). W każdej grupie, liczącej 10 szczurów, było 5 samców starszych wagi 200—220 g każdy i 5 samców młodszych wagi 100—120 g każdy. Zwierzęta grup doświadczalnych otrzymywały Lindan podskórnie co 3 dzień przez okres 3 miesiące w ilości 50 mg/kg wagi ciała w 0,2 ml oliwy (*Oliva olivae*) na dawkę. Grupa kontrolna otrzymywała co 3 dzień podskórnie przez okres 3 miesiące 0,2 ml oliwy. Do badań użyto wzorcowego pestycydu, opracowanego przez Zakłady Doświadczalne Chemipan (Instytut Przemysłu Organicznego PAN). Preparat ten o czystości minimum 99,0—99,9% posiada atesty stwierdzające jego stopień czystości sprawdzanej metodami chromatografii gazowej i cienkowarstwowej. Po zakończeniu podawania Lindanu zwierzęta były zabijane przez dekapitację w różnym czasie. Część szczurów (grupa I) — 5 starszych i 5 młodszych zabijano w 24 godz. po ostatniej iniekcji Lindanu, część (grupa II) — 5 starszych i 5 młodszych — w 2 tygodnie później i trzecią część (grupa III), licząc również 10 szczurów, w tym 5 starszych i 5 młodszych, zabijano w 2 miesiące od chwili zakończenia podawania insektycydu. Równolegle w tym samym czasie zabijano również szczury grupy kontrolnej, zarówno starsze, jak i młodsze. Pobrane od zabitych szczurów jądra oceniane były makroskopowo (wygląd, wielkość, waga, spoistość).

Uzyskane dane liczbowe ciężarów jąder poddano analizie statystycznej. Istotność różnic między ciężarem jąder w grupach doświadczalnych i w grupie kontrolnej oraz istotność różnic między okresami czasowymi w obrębie danej grupy doświadczalnej sprawdzono przy pomocy testu Duncana. Istotność różnic w ciężarze pomiędzy starszymi i młodymi szczurami w obrębie każdej grupy doświadczalnej oraz w okresie trwania doświadczenia sprawdzono przy pomocy testu *t* Studenta. Prawdopodobieństwo zaistnienia takich bądź większych, jak zaobserwowane, różnic w drodze losowej odczytano z tablic statystycznych. Przyjęto 5% ryzyko błędu wnioskowania.

Część jąder przeznaczoną do badań histopatologicznych utrwalano w 10% obojętnej formalinie, część przeznaczoną do badań histochemicznych utrwalano w płynie Bakera w temp. 4°C oraz nie utrwalone wycinki jąder zamrażano w eterze naftowym ochłodzonym w mieszaninie aceton—suchy lód do temp. -76°C i bezpośrednio po zamrożeniu krojono skrawki grubości 12 μ na mikrotomie obrotowym w kriostacie w temp. -20°C. Preparaty z bloczków parafinowych barwiono stosując następujące metody: 1) hemalaun Harrisa i eozynę alkoholową, 2) safraninę, 3) impregnację włókien srebrochłonnych wg Gomoriego, 4) barwienie azanem wg Heidenhaina, 5) barwienie rezorcyno-fuksyną wg Weigerta, 6) barwienie wg Brostera i Vinesa, 7) barwienie PAS-hematoksyliną dla zróżnicowania cyklu nabłonka nasiennego.

W gonadzie badano histochemicznie aktywność następujących enzymów: 1) fosfaty kwaśnej (ACP-azy) wg Gomoriego; 2) fosfaty zasadowej (ALP-azy) wg Gomoriego; 3) adenozynotrójfosfaty (ATP-azy) wg Wachsteina i Meisel; 4) 5-nukleotydazy (5-N-azy) wg Wachsteina i Meisel; 5) glukozo-6-fosfaty (G-6-P-azy) wg Wachsteina i Meisel; 6) esterazy niespecyficznej (N-E) wg Barneta i Seligmana;

7) dehydrogenazy bursztynianowej (SDH) wg Nachlasy; 8) dehydrogenazy mleczanowej (LDH) wg Barki i Andersona; 9) dehydrogenazy glukozy-6-fosforanowej (G-6-PDH) wg Barki i Andersona; 10) dehydrogenazy 3- β -ol-sterydowej (HSD) wg Wattenberga w modyfikacji Allena; 11) dehydrogenazy alkoholowej (ADH) wg Levy, Deane i Rubin; 12) reduktaz tetrazolowych wg Barki i Andersona. Badaniem histochemicznym objęto także glikogen i substancje PAS-dodatnie wg McManusa, lipidy z czerwienią oleistą O wg Lillie oraz kwasy nukleinowe DNA (wg Feulgena) i RNA (wg Bracheta).

WYNIKI BADAŃ WŁASNYCH

Ponieważ wyniki badań u szczurów starszych były identyczne jak u szczurów młodszych, dlatego zostały omówione razem. W grupie szczurów kontrolnych nie stwierdzono żadnych zmian histopatologicznych (ryc. 1 i 2) ani odchyżeń od normy w nasileniu odczynów histochemicznych. U wszystkich szczurów grup doświadczalnych, zarówno starszych, jak i młodszych, zaobserwowano w gonadzie męskiej wyraźne zmiany histopatologiczne. Miały one przeważnie charakter ogniskowy i polegały na zmianach degeneracyjnych różnego stopnia i zmianach martwiczych o charakterze hiper- i hipochromazji komórkowej, chromatolizy, pyknozy i uszkodzenia błony jądrowej komórek nabłonka nasiennego. Zmiany te nie były swoiste, lecz ujawniły się jako ogniskowe zahamowanie spermato- i spermiogenezy oraz złuszczenie się niedojrzałych komórek rozrodczych do światła kanalików nasiennych (ryc. 3). W niektórych kanalikach następowało rozluźnienie struktury nabłonka nasiennego oraz tworzenie wakuoli w komórkach nabłonka, głównie spermatocytach. Wyrodniejące i złuszczone się spermatocyty zlewały się czasem ze sobą tworząc wielojądrowe komórki olbrzymie (ryc. 4). Nieliczne kanaliki nasienne wykazywały znaczne zmniejszenie swej średnicy do około 60 μ , a ich tkanka graniczna wykazywała zwiększoną ilość włókien retikuliny i sprężystych (ryc. 7). Kanaliki te wysłane były prawie samymi komórkami Sertoliego, najbardziej odpornymi na działanie Lindanu (ryc. 6). Komórki gruczołu śródmiąższowego Leydiga ulegały w niektórych miejscach rozrostowi, wykazując znaczną proliferację włókien retikuliny i łącznotkankowych w gruczole (ryc. 8). W barwieniu wg metody Brostera i Vinesa wykazano zmniejszenie się ilości lub znikanie ziarnistości androgennych z komórek gruczołu śródmiąższowego, w których jednocześnie odkładały się w zwiększonej ilości lipidy. W przestrzeniach międzykanalikowych obserwowano obecność płynu białkowego na skutek przenikania płynnych składników krwi z uszkodzonych drobnych naczyń krwionośnych międzykanalikowych (ryc. 3). W przewodach najdrzy stwierdzono wśród zmniejszonej masy plemników również niedojrzałe, złuszczone i zwyrodniałe komórki rozrodcze (ryc. 5). Zmiany powyższe najbardziej

wyraźne były u szczurów zabitych w 24 godz. po zakończeniu podawania insektycydu i w 2 tygodnie później, ale jeszcze w 2 miesiące później były całkiem wyraźne.

Wykonane odczyny histochemiczne wykazały u wszystkich szczurów osłabienie odczynów na glikogen i substancje PAS-dodatnie w komórkach gruczołu śródmiąższowego Leydiga oraz w spermatogoniach. Osłabieniu uległa reakcja Feulgena na DNA w leptotenach i zygotenach nabłonka nasiennego, a także w komórkach gruczołu śródmiąższowego Leydiga. Stwierdzono także osłabienie odczynu na RNA, głównie w dojrzałych generacjach spermatyd. Jednocześnie dało się zaobserwować znaczne nagromadzenie się lipidów w komórkach gruczołu śródmiąższowego, a także w spermatogoniach. W późniejszym czasie lipidy znikwały jednakże z tych komórek.

We wszystkich przypadkach stwierdzono silne wzmożenie odczynu enzymatycznego na ACP-azę, głównie w młodych komórkach nabłonka nasiennego, a także w komórkach gruczołu śródmiąższowego Leydiga (ryc. 9, 10, 11). Wzmożenie odczynu enzymatycznego na niespecyficzne esterazy (NE) obserwowano w komórkach gruczołu śródmiąższowego oraz w komórkach Sertoliego. Także odczyn na dehydrogenazę mleczanową (LDH) uległ silnemu wzmożeniu w komórkach gruczołu śródmiąższowego, a także w niektórych spermatogoniach. Jednocześnie obserwowano osłabienie aktywności enzymatycznej na 5-nukleotydazę (5-N-azę) w tkance granicznej kanalików krętych i dojrzałych komórkach nasiennych (ryc. 12, 13).

Osłabieniu uległ także odczyn enzymatyczny na aktywność dehydrogenazy glukozy-6-fosforanowej (G-6-PDH) w komórkach gruczołu śródmiąższowego, znikając ogniskowo całkowicie z tych komórek. W okresie późniejszym następował powrót do normy w aktywności histochemicznej tego enzymu. Znacznemu osłabieniu uległ odczyn histochemiczny na aktywność dehydrogenazy 3- β -ol-sterydowej (HSD) w komórkach gruczołu śródmiąższowego Leydiga, dając w nich czasami całkowicie ujemną reakcję (ryc. 14, 15). To osłabienie odczynu histochemicznego na aktywność HSD utrzymywało się przez cały okres trwania doświadczenia.

Pozostałe odczyny histochemiczne w gonadzie męskiej w grupach doświadczalnych nie różniły się od kontrolnych. W żadnej z badanych grup nie nastąpiła statystycznie znamienna zmiana ciężarów obu gonad męskich w stosunku do grupy kontrolnej.

OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ

Przeprowadzone badania wykazały, iż długotrwałe podawanie małych dawek Lindanu prowadzi do powstania w gonadzie męskiej szczura ogniskowych lub rzadziej — rozlanych zmian histopatologicznych różnego ro-

dzaju i o różnym nasileniu. Stwierdzone zmiany histologiczne polegały na zahamowaniu spermato- i spermiogenezy oraz na uszkodzeniu nabłonka plemnikotwórczego jak również komórek gruczołu śródmiąższowego Leydiga. Zmiany powyższe były dość trwałe i można je było obserwować w gonadach szczurów zabitych w 24 godz. po zakończeniu podawania Lindanu, a także w 2 tygodnie i słabiej w 2 miesiące później. Podobne zmiany histopatologiczne o charakterze nieswoistym opisali Boyd i Chen (2), a także Dikshith i Datta (3, 5, 6, 7), którzy podawali szczurom dootrzewnowo i dojądrowo Lindan i Endrin.

Ogniskowość zmian histopatologicznych jest prawdopodobnie związana z cyklicznością przemian nabłonka nasiennego kanalików krętych, w następstwie różną jego podatnością na czynniki szkodliwe. Zmiany zwyrodnieniowe nabłonka nasiennego, począwszy od zwyrodnienia wodniczkowego, poprzez złuszczenie się niedojrzałych komórek nasiennych, a na ich obumieraniu kończąc, powodowały osłabienie więzi międzykomórkowej w nabłonku nasiennym i masowe gromadzenie się złuszczonych komórek w świetle kanalików. Pojawianie się wielojądrowych komórek olbrzymich odbywa się tylko w nabłonku uszkodzonym i powstaje poprzez fuzję młodych i zwyrodniałych komórek rozrodczych—spermatocytów (5, 6, 19). Wraz z uszkodzeniem nabłonka nasiennego obserwowano wzmożone odkładanie się lipidów. Fakt, iż lipidy gromadzą się tylko w komórkach uległych zmianom zwyrodnieniowym i to głównie gruczołu śródmiąższowego Leydiga, potwierdzają badania Iiraska i Rabocha (13), a także Reddy i Svobody (19) oraz Ribelina (21). Ribelin (21) obserwował gromadzenie się znacznej ilości lipidów w spermatogoniach i wczesnych stadiach spermatyd, a także w komórkach gruczołu śródmiąższowego Leydiga i komórkach Sertoliego. Odkładaniu się lipidów w komórkach gruczołu śródmiąższowego Leydiga i niedojrzałych komórkach nasiennych towarzyszyło wzmożenie odczynu histochemicznego na ACP-azę, co przy jednoczesnym osłabieniu reakcji na DNA i RNA w tych elementach komórkowych przemawia za uszkodzeniem struktur komórkowych odgrywających rolę czynnika energetycznego w ogólnym metabolizmie komórki i procesach prawidłowego dojrzewania elementów plemnikotwórczych (17).

Wzmożenie odczynu histochemicznego na ACP-azę w komórkach nabłonka plemnikotwórczego i w komórkach gruczołu śródmiąższowego jest związane z cytotoksycznym działaniem Lindanu na struktury submikroskopowe (głównie błony lizosomalne). Podobne wzmożenie odczynu na ACP-azę stwierdzili Koudstaal i wsp. (14, 15), badając jądra męzczyzn z zanikiem nabłonka nasiennego (tzw. *germinal cell aplasia*). Reddy i Svoboda (19), podając szczurom wybrane środki antyspermatogeniczne stwierdzili biochemicznie w gonadach męskich wzrost

ACP-azy o 40%. Wzmoczeniu aktywności enzymatycznej ACP-azy towarzyszył również wzrost aktywności N-E w komórkach gruczołu śródmiąższowego i w komórkach Sertoliego, chociaż, jak wiadomo, niespecyficzne esterazy są zespołem enzymów bardzo odpornych na działanie czynników uszkadzających (12).

Wydaje się, że szczególne znaczenie ma osłabienie odczynu enzymatycznego na G-6-PDH oraz HSD w komórkach gruczołu śródmiąższowego Leydiga, biorących, jak wiadomo, udział w prawidłowej sterydogenezie w gonadzie męskiej (11). Osłabienie lub brak dodatnich odczynów histochemicznych na aktywność tych enzymów w gonadzie męskiej świadczy o uszkodzeniu komórek gruczołu śródmiąższowego przez Lindan, nawet wtedy gdy zmiany histopatologiczne są niewidoczne lub słabo zaznaczone. Osłabienie odczynu histochemicznego na te enzymy jest tym ważniejsze, iż jednocześnie Lindan powodował znaczny i długotrwały wzrost aktywności enzymatycznej LDH w nabłonku nasiennym i w komórkach gruczołu śródmiąższowego, co jest wyrazem wzmoczonego, wyrównawczego metabolizmu w gonadzie, reakcji biorącej prawdopodobnie udział w niejasnym jeszcze całkowicie mechanizmie sterydogenezy, warunkującej między innymi prawidłową funkcję nabłonka nasiennego (13).

Wnioski

1. Przewlekłe podawanie małych dawek Lindanu prowadzi w gonadzie męskiej szczura do zaburzeń w niektórych z badanych układów enzymatycznych biorących udział w spermat- i spermiogenezie oraz prawidłowej sterydogenezie, co wywiera zasadniczy wpływ na zachowanie się nabłonka nasiennego i na czynność hormonalną gruczołu śródmiąższowego uchwytaną w badaniu histochemicznym.

2. Pod wpływem stosowanego Lindanu ulega wzmoczeniu aktywność fosfatazy kwaśnej, niespecyficznej esterazy i dehydrogenazy mleczanowej, osłabieniu natomiast ulega aktywność dehydrogenazy glukozo-6-fosforanowej i dehydrogenazy 3- β -ol-sterydowej. Zmianom tym towarzyszy wzmoczone odkładanie się lipidów w nabłonku nasiennym i w komórkach gruczołu śródmiąższowego oraz osłabienie odczynów na kwasy nukleinowe DNA i RNA, glikogen i substancje PAS-dodatnie.

3. W wyniku zaburzeń enzymatycznych ujawniają się w gonadzie zmiany histopatologiczne: zwyrodnieniowe i martwicze w nabłonku nasiennym i w komórkach gruczołu śródmiąższowego. Dochodzi do rozrostu włókien srebrochłonnych i łącznotkankowych w gruczole Leydiga.

4. Na podstawie przeprowadzonej analizy statystycznej ciężarów badanych jąder w poszczególnych grupach doświadczalnych i czasowych

wnioskować należy, iż mimo uchwytnych zmian histochemicznych i histopatologicznych nie występuje zanik lub przerost gonady statystycznie znamiennej.

5. Pod koniec 2 miesiąca od zakończenia podawania Lindanu komórki nabłonka nasiennego i gruczołu śródmiaższowego zaczynają regenerować.

PIŚMIENNICTWO

1. Bern H., Levy R.: *Am. J. Anat.* **90**, 131—165, 1952.
2. Boyd V., Chen C.: *Arch. Environ. Health.* **17**, 156—163, 1968.
3. Datta K., Dikshith T.: *Exp. Path.*, **8**, 363—370, 1973.
4. De Rooij D., Kramer M.: *Virchows Arch.* **4**, 267—275, 1970.
5. Dikshith T., Datta K.: *Exp. Path.* **7**, 309—316, 1972.
6. Dikshith T., Datta K.: *Acta Pharmacol. et Toxicol.* **31**, 1—10, 1973.
7. Dikshith T., Datta K.: *Bull. Environ. Contamin. Toxicol.* **9**, 65—69, 1973.
8. Espir M., Hall P., Kretser D.: *Brit. med. J.* **1**, 423—425, 1970.
9. Gaines T., Kimbrough R.: *Bull. WHO* 737—745, 1973.
10. Hard G., Butler W.: *J. of Path.* **102**, 201—207, 1976.
11. Hall P., Irby D., Kretser D.: *Endocrin.* **84**, 488—496, 1969.
12. Huggins C., Moulton S.: *J. Exp. Med.* **88**, 169—197, 1948.
13. Iirasek J., Raboch J.: *Fertil. Steril.* **14**, 237—244, 1963.
14. Koudstaal J., Frensdorf E., Kremer J., Mudde J., Hardonk M.: *Acta Endocrin.* **55**, 427—439, 1967.
15. Koudstaal J., Frensdorf E., Kremer J., Mudde J., Hardonk M.: *Acta Endocrin.* **55**, 415—426, 1967.
16. Milby T., Samhuels A., Ottoboni A.: *J. Occup. Med.* **10**, 584—587, 1967.
17. Miętkiewski K., Walczak M., Cymers Z., Rucki T.: *Folia Morph.* **22**, 201—223, 1963.
18. Miętkiewski K., Limanowski A., Trojanowicz R., Warchoł Ł.: *Endocrin. Pol.* **20**, 529—539, 1969.
19. Reddy K., Svoboda D.: *Arch. Path.* **84**, 376—392, 1967.
20. Redehead J.: *Lancet* **1**, 684—688, 1968.
21. Ribelin A.: *Arch. Path.* **75**, 229—235, 1963.
22. Rumsey T., Cabell C., Bond J.: *Am. J. Vet. Res.* **30**, 2209—2214, 1969.
23. Singh G., Khanna S.: *Exp. Path.* **7**, 172—175, 1972.
24. Singh G., Khanna S.: *Exp. Path.* **9**, 251—262, 1974.

Otrzymano 21 VII 1978.

OBJAŚNIENIA RYCIN

Ryc. 1. Grupa IV (kontrolna). Obraz histologiczny poprzecznie przeciętych kanalików krętych jądra szczura. Widoczna prawidłowa spermat- i spermiogeneza w kanalikach. Na styku kanalików widoczne komórki gruczołu śródmiaższowego Leydiga. Barw. H+E. Pow. 200×.

Ryc. 2. Grupa IV (kontrolna). Przewód najądrza szczura kontrolnego wypełniony dużą ilością dojrzałych komórek rozrodczych — plemników. Barw. H+E. Pow. 400×.

Ryc. 3. Grupa II. Obumieranie i złuszczenie się niedojrzałych komórek rozrodzonych do światła kanalików. Brak plemników w kanalikach. Płyn obrzękowy w przestrzeniach międzykanalikowych. Barw. H+E. Pow. 200×.

Ryc. 4. Grupa III. Liczne zwyrodniałe spermatoocyty oraz komórki olbrzymie w nabłonku nasiennym. Barw. H+E. Pow. 400×.

Ryc. 5. Grupa I. W przewodach najądrza oprócz plemników widoczne złuszczone, niedojrzałe komórki rozrodcze — spermatoocyty. Barw. H+E. Pow. 400×.

Ryc. 6. Grupa II. Kanaliki kręte pozbawione całkowicie nabłonka nasiennego. Pogrubienie tkanki granicznej tych kanalików. Barw. H+E. Pow. 200×.

Ryc. 7. Grupa III. Zaznaczona proliferacja włókien srebrochłonnych w tkance granicznej kanalików nasiennych. Srebrzenie siateczki wg Gomoriego. Pow. 200×.

Ryc. 8. Grupa I. Rozrost włókien srebrochłonnych w przerośniętym gruczole śródmiąższowym Leydiga. Srebrzenie siateczki wg Gomoriego. Pow. 400×.

Ryc. 9. Grupa IV (kontrolna). Fosfataza kwaśna (ACP-aza). Dość silny odczyn histochemiczny w dojrzałych komórkach gruczołu śródmiąższowego. Słaby drobnoziarnisty odczyn w komórkach rozrodczych i w tkance granicznej kanalików. Odczyn Gomoriego. Pow. 200×.

Ryc. 10. Grupa I. Fosfataza kwaśna (ACP-aza). Wybitne wzmożenie odczynu na ACP-azę w komórkach gruczołu śródmiąższowego, tkance granicznej i spermatoogoniach. Odczyn Gomoriego. Pow. 200×.

Ryc. 11. Grupa I. Fosfataza kwaśna (ACP-aza). Wybitne wzmożenie odczynu na ACP-azę w komórkach rozrośniętego gruczołu śródmiąższowego Leydiga. Odczyn Gomoriego. Pow. 400×.

Ryc. 12. Grupa IV (kontrolna). 5-nukleotydaza (5-N-aza). Bardzo intensywny odczyn histochemiczny widoczny w spermatoocytach i w ścianach naczyń. Słabszy w tkance granicznej. Odczyn wg Wachsteina i Meisel. Pow. 200×.

Ryc. 13. Grupa I. 5-nukleotydaza (5-N-aza). Zaznaczone osłabienie odczynu histochemicznego w nabłonku nasiennym. Odczyn wg Wachsteina i Meisel. Pow. 200×.

Ryc. 14. Grupa IV (kontrolna). Dehydrogenaza 3- β -ol-sterydowa (HSD). Silny odczyn histochemiczny widoczny tylko w komórkach gruczołu śródmiąższowego Leydiga. Odczyn wg Wattenberga i Allena. Pow. 200×.

Ryc. 15. Grupa III. Dehydrogenaza 3- β -ol-sterydowa (HSD). Całkowicie ujemny odczyn enzymatyczny na obecność HSD w komórkach gruczołu śródmiąższowego Leydiga. Odczyn wg Wattenberga i Allena. Pow. 200×.

РЕЗЮМЕ

В данной работе автор представил опытные результаты влияния длительного применения небольших доз хлороорганического инсектицида Линдана на мужскую гонаду белой крысы. Исследования показали, что Линдан применяемый в небольших дозах в течение 3 месяцев повреждает мужскую гонаду крысы.

Под его влиянием выступает в гонаде понижение активности гистохимических реакций следующих энзимов: дегидрогеназы 3- β -оль стероидной (HSD), глюкозо-6-фосфорановой дегидрогеназы (G-6-PDH), а также частично 5-нуклеотидазы (5-N-азы). Одновременно усиливается гистoenзиматическая реакция на кислую фосфатазу (ACP-азу), лактатную дегидрогеназу (LDH), а также на неспецифическую эстеразу (N-E). Ослаблению подвергаются также гистохимические реакции семенного эпителия и клеток интерстициальной железы на гликоген и PAS-положительное вещество и нуклеиновые кислоты: DNA и RNA.

Выступает также отложение липидов в поврежденных клетках интерстициальной железы Лейдига, в некоторых семенных клетках и в ткани разделяющей канальцы.

Самые серьёзные гистопатологические изменения замеченные автором в гоноде — это очаговые дегенеративные и некротические изменения семенного эпителия канальцев с заторможением спермато- и спермиогенезы. Почти все вышеупомянутые изменения носят обратимый характер.

SUMMARY

The author presented the results of his examinations on the effect of a long-term experimental administration of low doses of chlororganic insecticide, Lindan, on the testis of the white rat. The examinations showed that Lindan applied in low doses for a period of three months damaged the testis of the white rat.

Lindan caused a decrease in the activity of histochemical reactions of the following enzymes: steroid 3- β -ol dehydrogenase (HSD), G-6-P-dehydrogenase (G-6-PDH) and, partly, 5-nucleotidase. Simultaneously, Lindan also increased the histoenzymatic reaction to acid phosphatase (ACP), lactic dehydrogenase (LDH) and to non-specific esterase (N-E). In the seminiferous epithelium and in interstitial cells there were decreased histochemical reactions to glycogen, PAS-positive substances and DNA and RNA were also found. Accumulation of lipids was observed in injured Leydig interstitial cells, in some germ cells and in the basement membrane of tubules.

Serious histopathological changes observed by the author in the testis were as follows: focal degenerative and necrotic changes in the epithelium of the seminiferous tubules and inhibited spermato- and spermiogenesis. Almost all the above changes proved to be reversible.

EXPLANATION TO FIGURES

Fig. 1. Group IV (control). A histological picture of cross-sectioned seminiferous tubules in the white rat. Normal spermato- and spermiogenesis in the tubules. Among the tubules Leydig cells are visible. Haematoxylin and eosin (HE). Magn. ca 200 \times .

Fig. 2. Group IV (control). Ductus epididymis of a control rat filled up with numerous adult spermatozoa. HE. Magn. ca 400 \times .

Fig. 3. Group II. Necrobiosis and exfoliation of young germ cells inside the tubules. Absence of spermatozoa in the tubules. Oedematous liquid among the tubules. HE. Magn. 200 \times .

Fig. 4. Group III. Numerous degenerated spermatocytes and giant multi nucleated cells in the seminiferous epithelium. HE. Magn. 400 \times .

Fig. 5. Group I. In ductus epididymis besides spermatozoa young spermatocytes are visible. HE. Magn. 400 \times .

Fig. 6. Group II. Seminiferous tubules deprived completely of the seminiferous epithelium. Visible thickened basement membrane of the tubules. HE. Magn. 200 \times .

Fig. 7. Group III. Visible proliferation of reticular fibres in the basement membrane of the seminiferous tubules. Gomori stain. Magn. 200 \times .

Fig. 8. Group I. Proliferation of reticular fibres in hypertrophied Leydig interstitial cells. Gomori stain. Magn. 400 \times .

Fig. 9. Group IV (control). Acid phosphatase. Strong histochemical reaction in adult Leydig interstitial cells. Weak fine granular reaction in germ cells and in the basement membrane of the tubules. Gomori stain. Magn. 200×.

Fig. 10. Group I. Acid phosphatase (ACP). Strong reaction to acid phosphatase in Leydig interstitial cells, basement membrane and spermatogonia. Gomori stain. Magn. 200×.

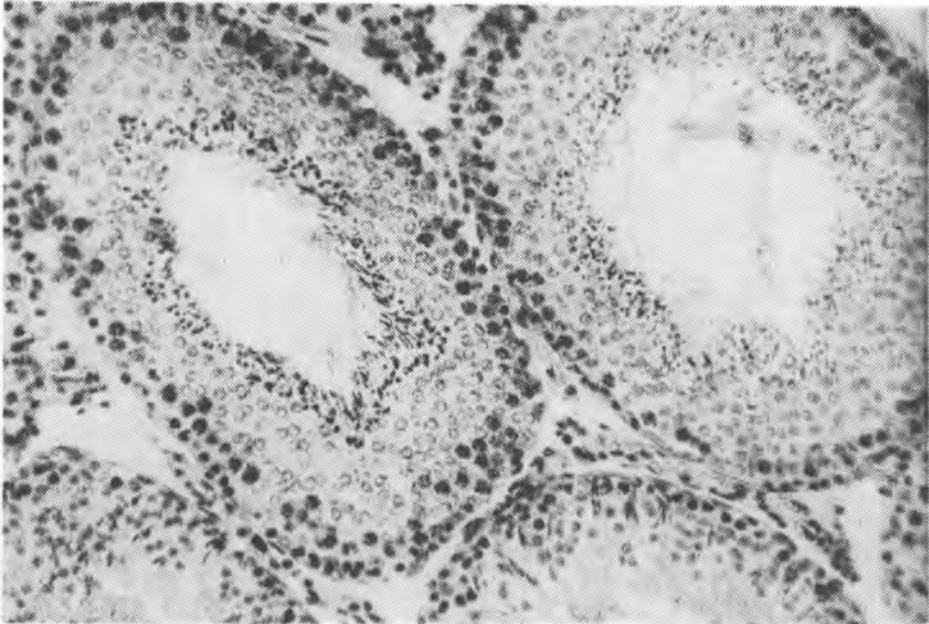
Fig. 11. Group I. Acid phosphatase. Highly increased reaction to acid phosphatase in hypertrophied Leydig interstitial cells. Gomori stain. Magn. 400×.

Fig. 12. Group IV (control). 5-nucleotidase. Highest histochemical reaction in the spermatids and in the walls of blood vessels. The same reaction is weak in the basement membrane. Wachstein and Meisel stain. Magn. 200×.

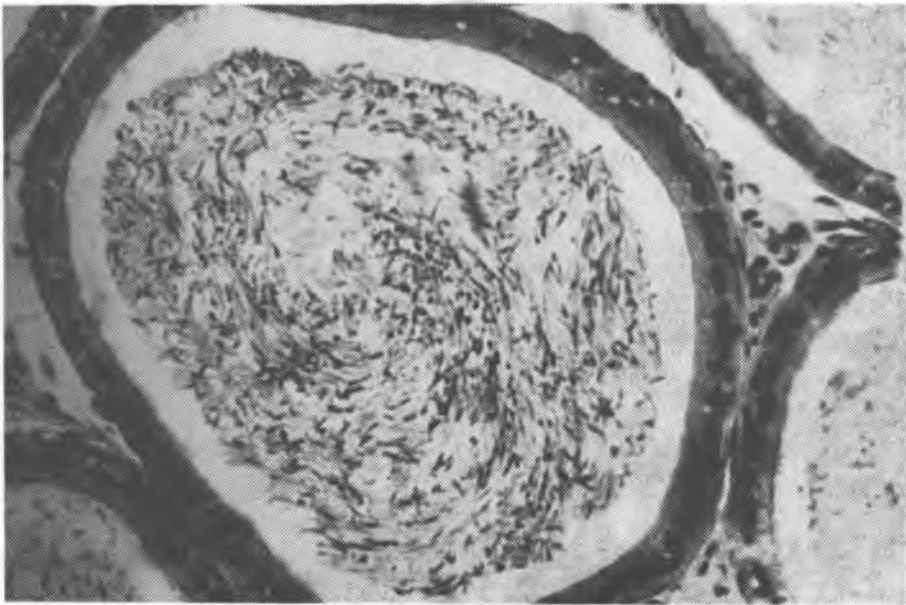
Fig. 13. Group I. 5-nucleotidase. Visible decreased histochemical reaction in the seminiferous epithelium. Wachstein and Meisel stain. Magn. 200×.

Fig. 14. Group IV (control). Steroid 3- β -ol dehydrogenase. Strong histochemical reaction is visible only in the Leydig interstitial cells. Staining according to Wattenberg and Allen. Magn. 200×.

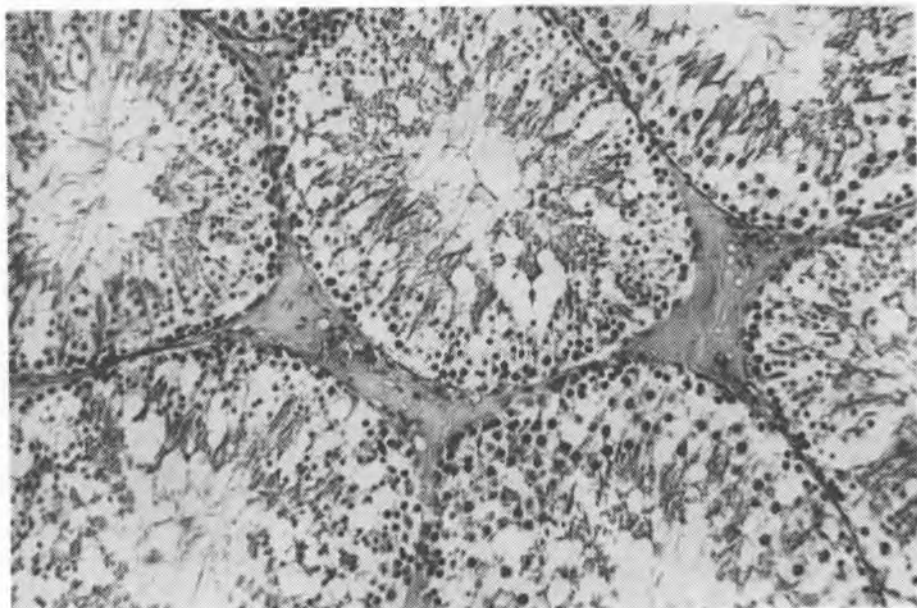
Fig. 15. Group III. Steroid 3- β -ol dehydrogenase. Completely negative enzymatic reaction to steroid 3- β -ol dehydrogenase in Leydig interstitial cells. Staining according to Wattenberg and Allen. Magn. 200×.



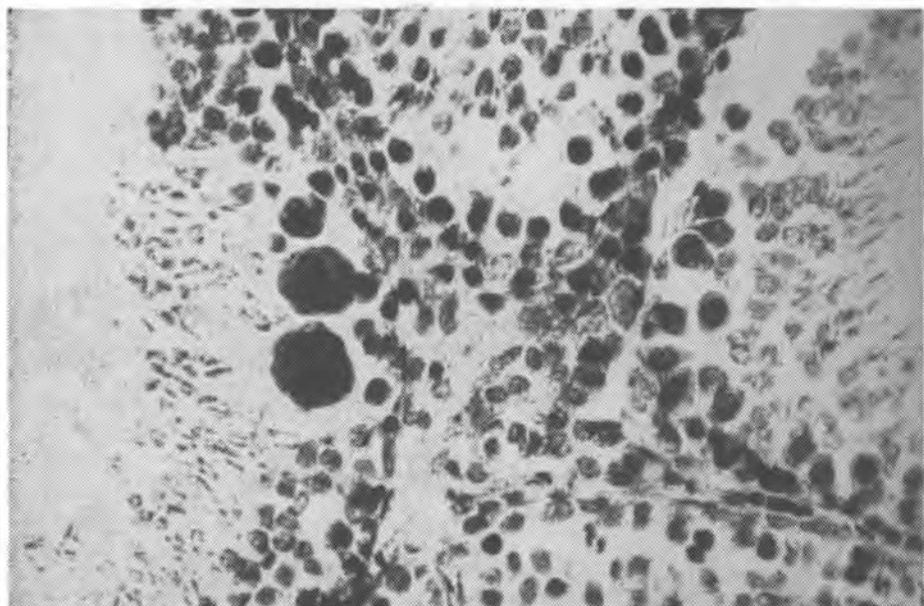
Ryc. 1



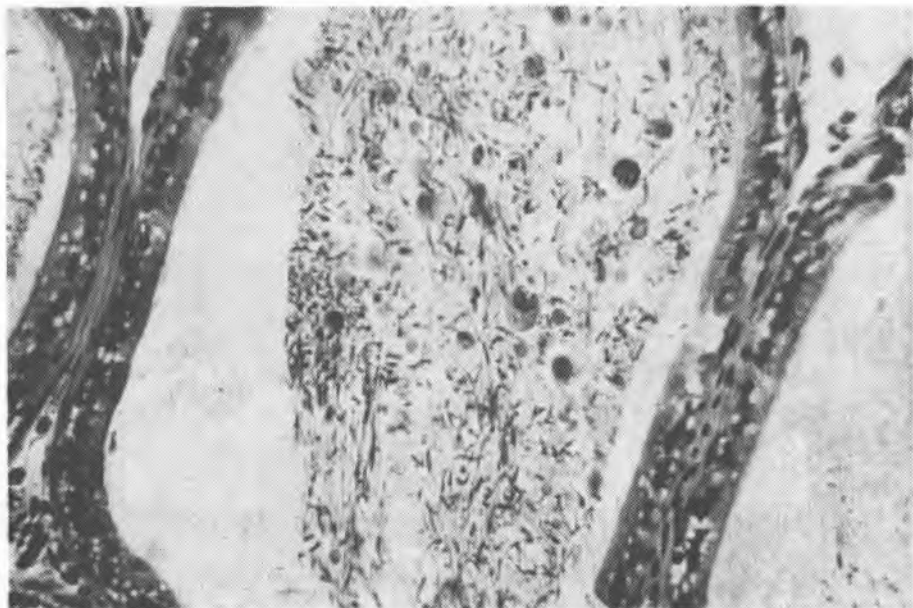
Ryc. 2



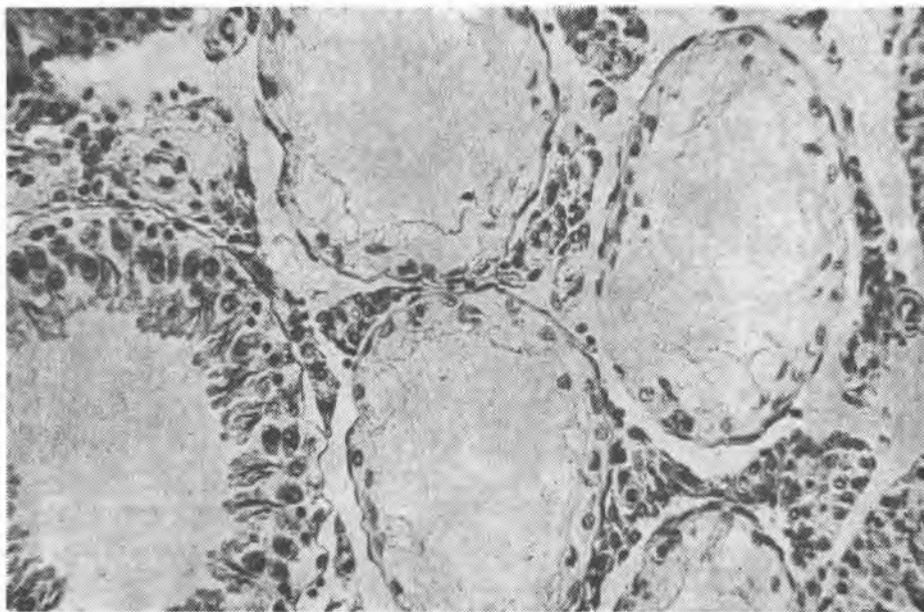
Ryc. 3



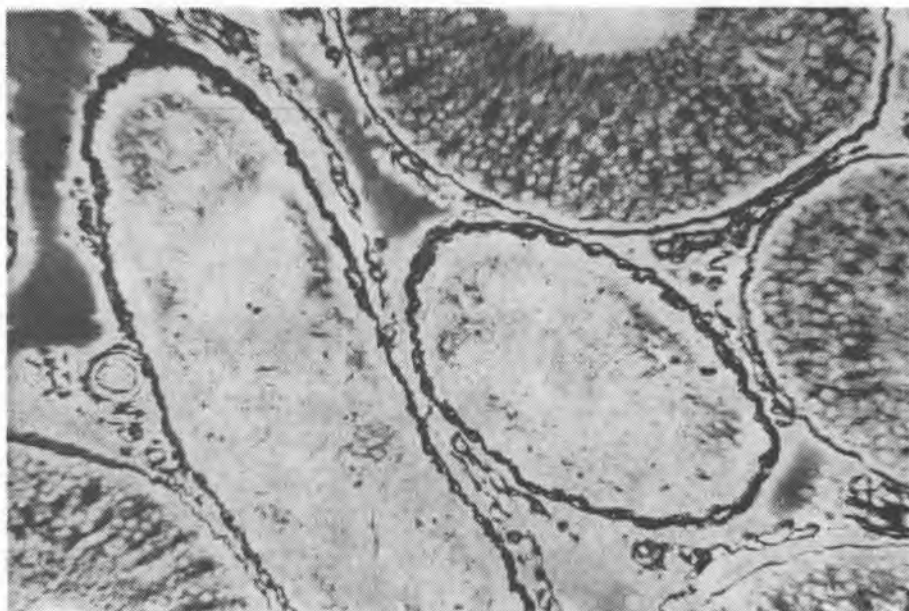
Ryc. 4



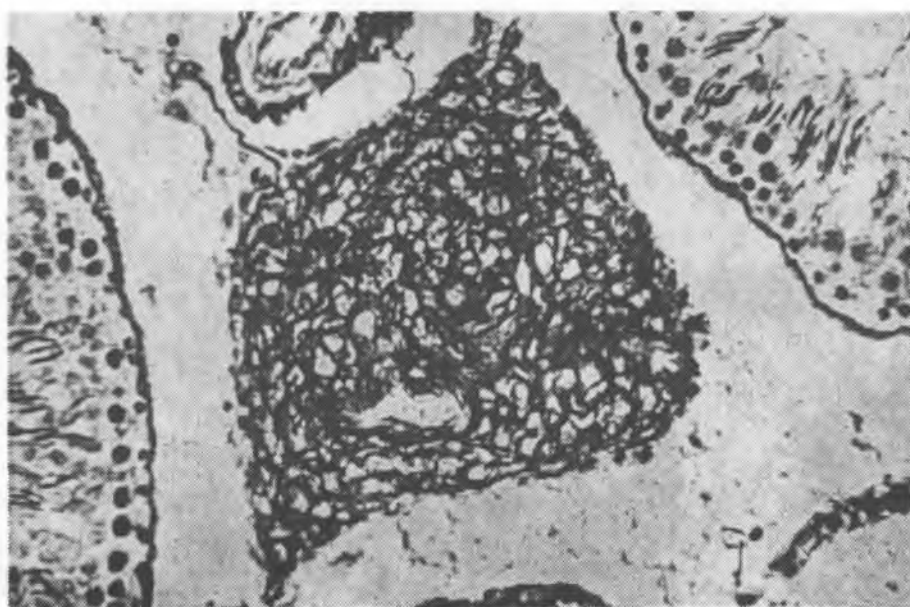
Ryc. 5



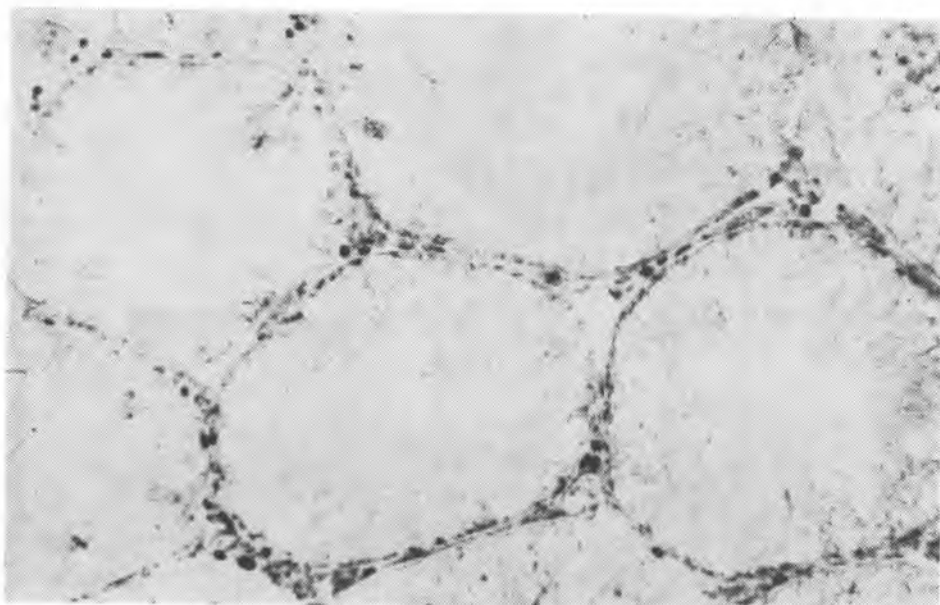
Ryc. 6



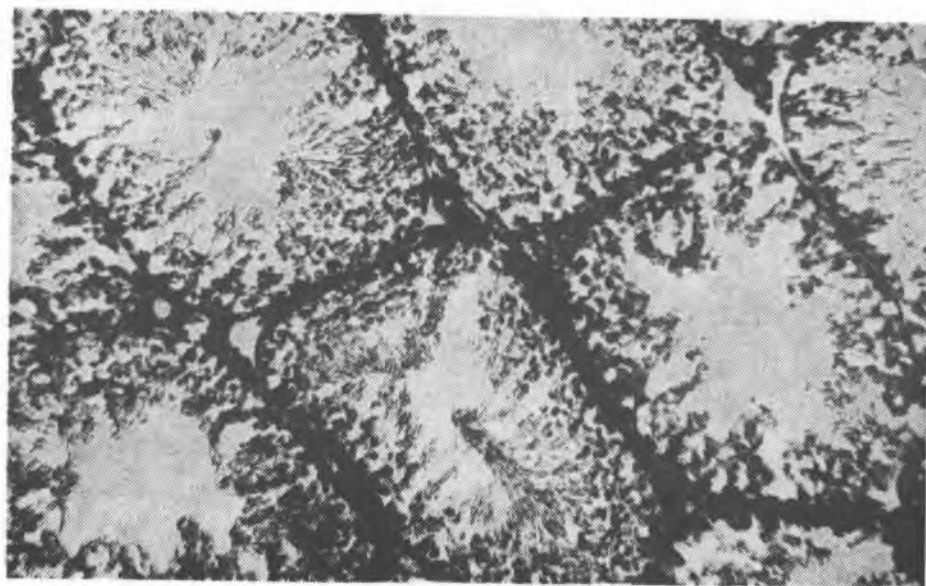
Ryc. 7



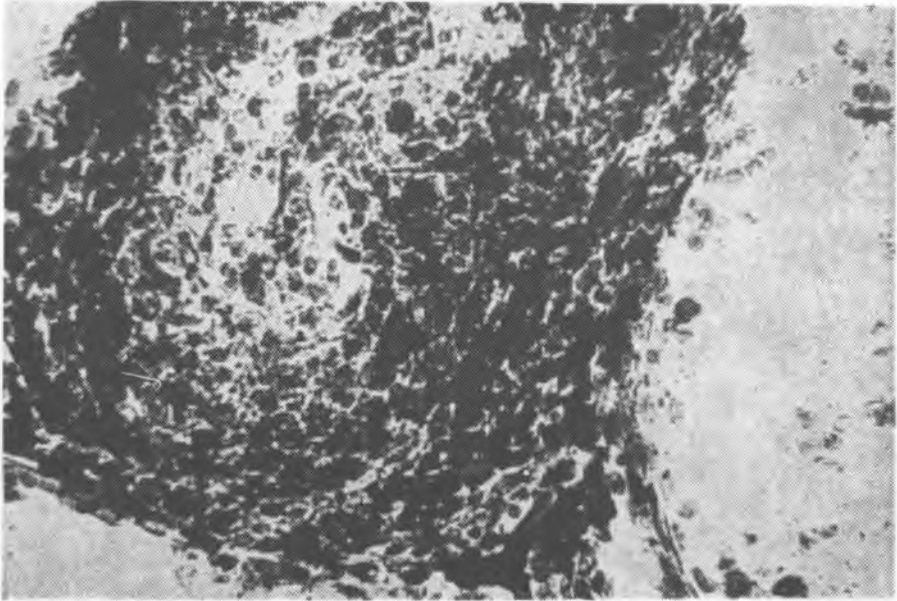
Ryc. 8



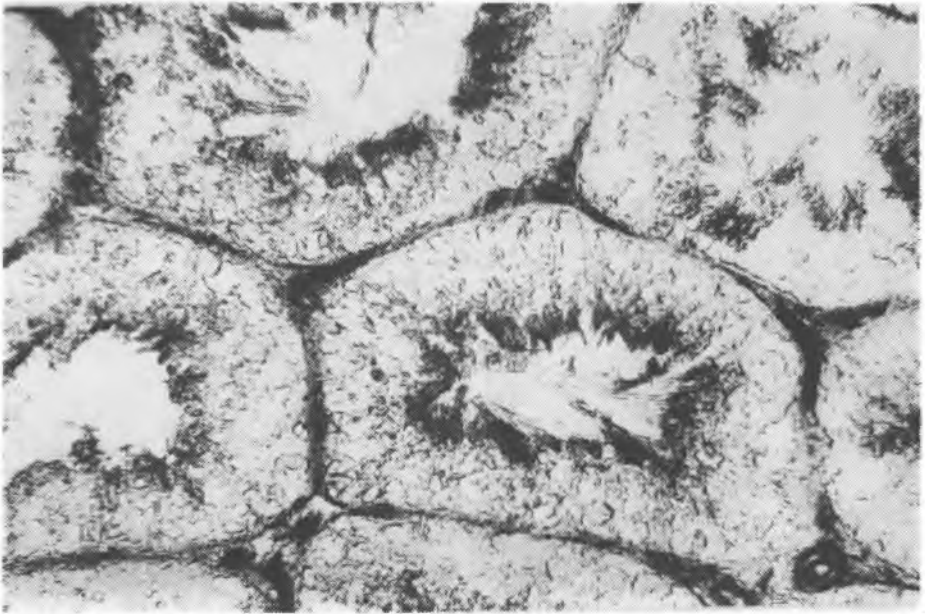
Ryc. 9



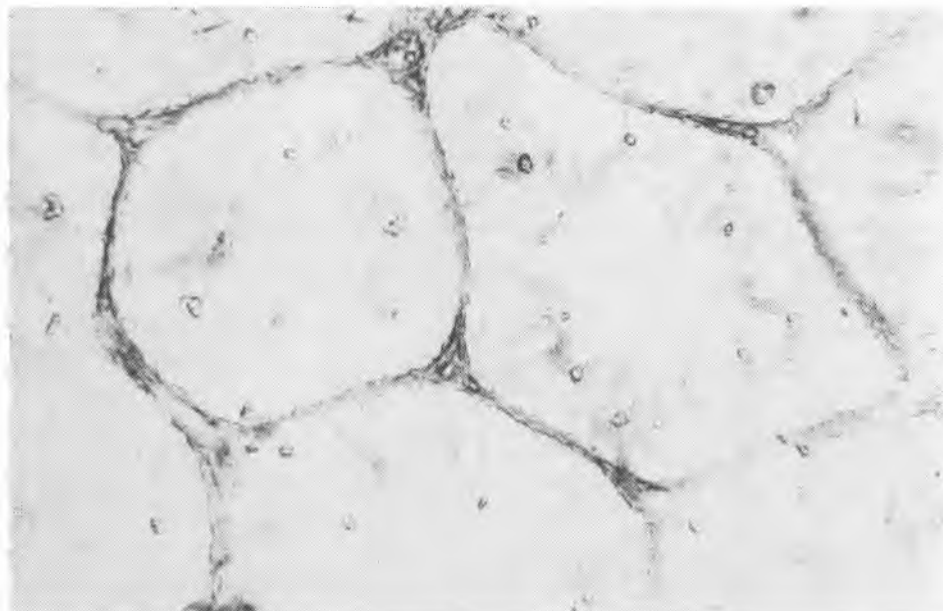
Ryc. 10



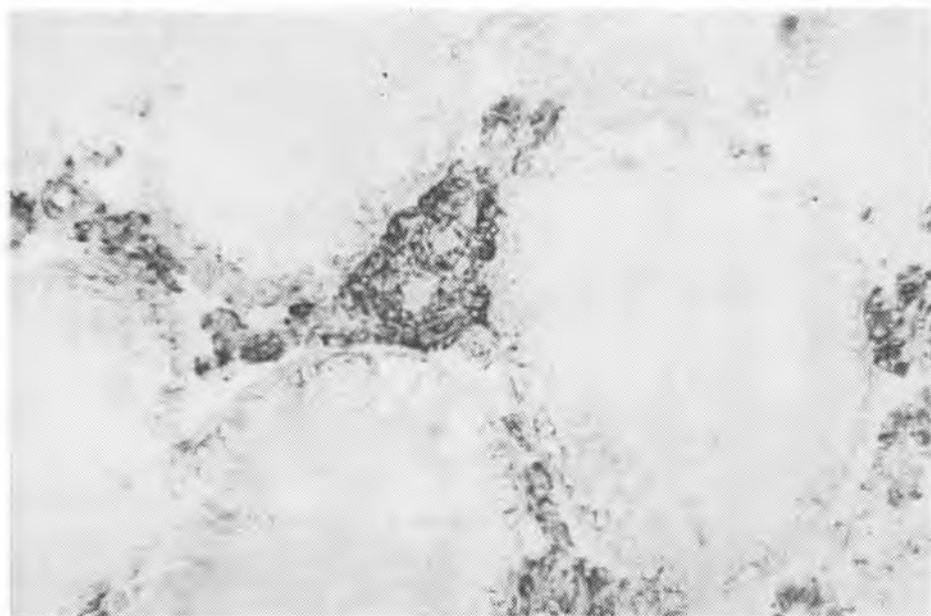
Ryc. 11



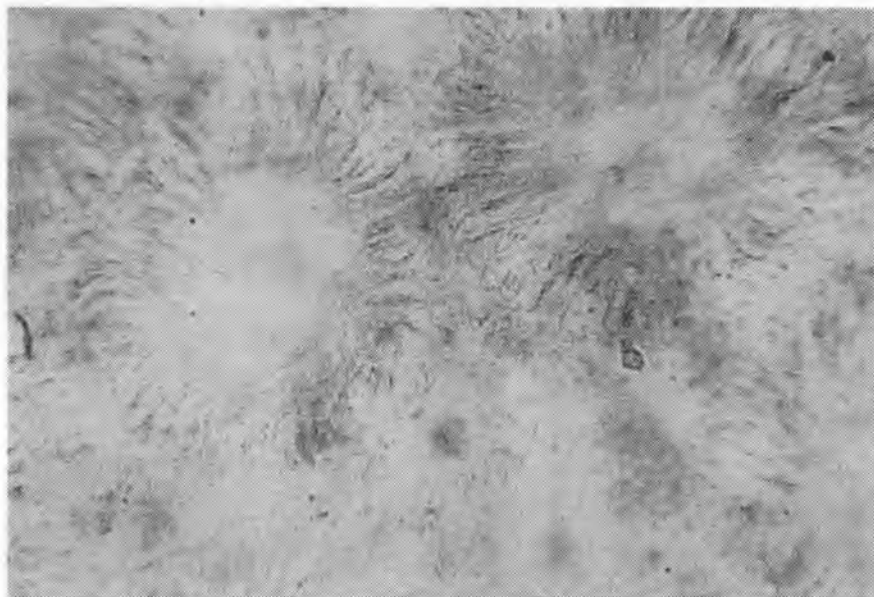
Ryc. 12



Ryc. 13



Ryc. 14



Ryc. 15