

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 Trichlorfonu**

Морфологические и гистохимические исследования мужской гонады белой крысы
под влиянием длительного применения небольших доз Трихлорфона

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

Grupą insektycydów, która wypiera z powszechnego stosowania kumulujące się w organizmie związki chloroorganiczne są pestycydy z grupy związków fosforoorganicznych, działające jednak toksycznie na organizmy żywe głównie poprzez hamowanie czynności esterazy cholinowej, co powoduje nagromadzenie się acetylocholino w ustroju i endogenne zatrucie nią organizmu (21, 22, 25). Nie jest to jedyne działanie szkodliwe, stwierdzono bowiem, iż związki fosforoorganiczne wywierają także bezpośrednie działanie cytotoksyczne, co stwierdzone zostało między innymi w hodowlach tkankowych (10, 12).

Przypuszcza się, iż insektycydy, również z grupy związków fosforoorganicznych, mogą wywierać niekorzystny wpływ na potencję seksualną mężczyzn, którzy stykają się z nimi przez dłuższy okres. W „Medical News Tribune” w r. 1969 opisano przypadek 35-letniego mężczyzny, pracownika rolnego, u którego po roku pracy przy pestycydach oprócz pewnych objawów świadczących o zatruciu wystąpiły także objawy impotencji. Mężczyzna ten wiązał jej powstanie z długotrwałą pracą przy preparatach pestycydowych, takich jak Metasystox 55, Gesatop i Tecane (15). W r. 1970 Espir i wsp. (9) stwierdzili impotencję u 4 spośród 5-osobowego zespołu pracowników rolnych mających stały kontakt z pestycydami (wiek: 35, 37, 44 i 46 lat). Impotencja wystąpiła u nich jako pojedynczy, izolowany objaw przy braku jakichkolwiek innych dolegliwości. Nie stwierdzono również w badaniach laboratoryjnych tych chorych większych odchyień od normy. Wyżej wymienieni pracownicy rolni dotknięci impotencją stykali się przez długi okres głównie z insektycydami fosforoorganicznymi różnego rodzaju, co uniemożliwiło bliższe wytypowanie określonych pestycydów powodujących impotencję. Leczeni testosteronem w dawce 5 mg dziennie chorzy powrócili do zdrowia klinicznego: jeden z nich po upływie 2 miesięcy, drugi i trzeci po trzech miesiącach, a czwarty dopiero po upływie roku. Nie wiado-

mo jednak, w jakim stopniu powrót do zdrowia uzależniony był od leczenia testosteronem, a w jakim od przerwania kontaktu z pestycydami. Espir i wsp. (9) uważają, iż impotencja mogła być spowodowana uszkodzeniem gonady męskiej przez pestycydy. Podobnego zdania jest Peck (17).

Opisane wyżej zaburzenia w potencji u mężczyzn pracujących przez dłuższy czas przy pestycydach oraz prace badawcze na temat szkodliwego wpływu insektycydów z różnych grup chemicznych na rozrodczość u zwierząt doświadczalnych (3, 4, 6, 8, 11, 20, 23) stanowią podstawę nielicznych prac morfologicznych mających na celu histopatologiczną obserwację gonady męskiej pod wpływem działania pestycydów. W r. 1973 Datta i Dikshith (5, 7) podawali szczurom dootrzewnowo insektycydy chloro- i fosforoorganiczne. Znaczna liczba zwierząt padła w czasie trwania doświadczenia. U zwierząt, które przeżyły, autorzy oprócz zmian degeneracyjnych w wątrobie stwierdzili zmiany zwyrodnieniowe w jądrach z zanikiem nabłonka nasieniotwórczego. Autorzy podkreślają, iż zwierzęta te nie wykazywały cech klinicznych zatrucia pestycydami.

Celem pracy było doświadczalne sprawdzenie, czy długotrwałe stosowanie małych dawek Trichlorfonu (insektycydu w Polsce powszechnie używanego) u szczurów wywiera morfologicznie uchwytne wpływy na gonadę męską, a w następstwie na aktywność seksualną samców. Ponadto sprawdzenie zdolności regeneracyjnej nabłonka nasiennej gonady oraz komórek gruczołu śródmiąższowego Leydiga po przerwaniu kontaktu z pestycydami. Uzyskane ewentualnie zmiany doświadczalnie uszkodzonej gonady męskiej przez Trichlorfon mogłyby stanowić model uszkodzenia gonady męskiej u mężczyzn stykających się stale z pestycydami z racji swego zawodu, a prowadzących do zaburzeń gonadalnych, także do impotencji i niepłodności.

MATERIAŁ I METODYKA BADAŃ

Do badań użyto 40 szczurów białych płci męskiej rasy Wistar, genetycznie jednorodnych, „klinicznie zdrowych”, w 2 grupach wiekowych: szczurów starszych i szczurów młodszych. 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 Trichlorfon podskórnie (okolica skrotalna) co 3 dzień przez okres 3 miesięcy w ilości 100 mg/kg wagi ciała w 0,5 ml soli fizjologicznej na dawkę. Grupa kontrolna otrzymywała co 3 dzień podskórnie przez okres 3 miesięcy 0,5 ml soli fizjologicznej jako rozpuszczalnika dla Trichlorfonu. Do doświadczenia użyto wzorcowego pestycydu opracowanego przez zakłady doświadczalne Chemipan (Instytut Przemysłu Organicznego PAN). Po zakończeniu podawania Trichlorfonu zwierzęta były zabijane przez dekapitację w różnym czasie. Pierwszą część szczurów (grupa I) — 5 starszych i 5 młodszych zabijano w 24 godziny po ostatniej iniekcji Trichlorfonu, drugą część (grupa II) — 5 starszych i 5 młodszych w 2 tygodnie później i trzecią część (grupa III), liczącą również 10 szczurów, 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, spistość). Uzyskane dane liczbowe ciężarów jąder poddano analizie statystycznej. Istotność różnic między grupami doświadczalnymi a ciężarem jąder w grupie kontrolnej oraz między okresami czasowymi w obrębie danej grupy doświadczalnej sprawdzono przy pomocy testu Duncana. Istotność różnic w ciężarze pomiędzy starszymi i młodymi szczurami w obrębie każ-

dej grupy doświadczalnej oraz okresu trwania doświadczenia sprawdzono przy pomocy testu *t* Studenta. Prawdopodobieństwo zaistnienia takich bądź większych niż 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 nadtlenym 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 następującymi metodami: 1) hemalaunem Harrisa i eozyną alkoholową; 2) safraniną; 3) przez 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 w celu zróżnicowania fazy cyklu nabłonka nasiennego (2, 13).

W gonadzie badano histochemicznie aktywność następujących enzymów: 1) fosfatazy kwaśnej (ACP-azy) wg Gomoriego; 2) fosfatazy zasadowej (ALP-azy) wg Gomoriego; 3) adenzynotrójfosfatazy (ATP-azy) wg Wachsteina i Meisel; 4) 5-nukleotyduzy (5-N-azy) wg Wachsteina i Meisel; 5) glukozy-6-fosfatazy (G-6-P-azy) wg Wachsteina i Meisel; 6) esterazy niespecyficznej (N-E) wg Barneta i Seligmana; 7) dehydrogenazy mleczanowej (LDH) wg Barki i Andersona; 9) dehydrogenazy glukozy-6-fosforanowej (G-6-PDH) wg Barki i Andersona; 10) dehydrogenazy 3- β -olsterydowej (HSD) wg Wattenberga w modyfikacji Allena (24); 11) dehydrogenazy alkoholowej (ADH) wg Levy, Deane i Rubin (14); 12) reduktaz tetrazolowych wg Barki i Andersona. Badaniem histochemicznym objęto także: glikogen i substancje PAS-dodatnie wg McManusa, lipidy z czerwieni oleistą O wg Lillie oraz kwasy nukleinowe: DNA wg Feulgena i RNA wg Bracheta.

Najpospolitszą drogą absorpcji pestycydów jest skóra. Przenikające przez skórę pestycydy powodują zmiany miejscowe oraz głównie zatrucia ogólnoustrojowe, z tego względu w powyższym doświadczeniu podawano Trichlorfon podskórnie. Jednocześnie wiadomo, iż absorpcja pestycydów przez skórę różnych okolic ciała nie jest jednakowa i różnice w poziomie absorpcji są bardzo duże (21). Doniesienie Beata (1) i Wolfa (27) oraz Wolfa i wsp. (26) wykazały, że okolica skrotalna jest bardziej podatna na absorpcję pestycydów niż inne okolice ciała.

WYNIKI BADAŃ

Jądra szczurów kontrolnych starszych i młodszych nie wykazywały w badaniach histochemicznych i histologicznych odchyień od normy (ryc. 1 i 2). W grupach doświadczalnych (I, II, III) nie stwierdzono zmian w wyglądzie, spoiściowości ani wadze jąder. Badania nie wykazały statystycznie istotnych różnic w ciężarach jąder w stosunku do grupy kontrolnej (IV).

We wszystkich grupach doświadczalnych stwierdzono zmiany histochemiczne i histopatologiczne w komórkach nabłonka nasiennego i w komórkach gruczołu śródmiąższowego Leydiga. Intensywność tych zmian była taka sama u szczurów starszych i młodszych, dlatego omówiono je razem. Zmiany histochemiczne i histopatologiczne zaznaczały się najsil-

niej w grupie I (szczury zabite w 24 godz. po zakończeniu podawania Trichlorfonu), słabiej — w 2 tygodnie później i najsłabsze były u szczurów grupy III, zabitych w 2 miesiące po ostatniej dawce pestycydu.

Pierwszymi zmianami, jakie zaobserwowano, były zaburzenia w aktywności niektórych z badanych enzymów. Było to osłabienie lub ogniskowo tylko śladowy dodatni odczyn na dehydrogenazę 3- β -ol-sterydową (HSD) w komórkach gruczołu śródmiąższowego Leydiga. Osłabienie aktywności HSD trwało dość długo i utrzymywało się prawie bez zmian przez cały okres trwania doświadczenia. Również odczyn histochemiczny na dehydrogenazę glukozo-6-fosforanową (G-6-PDH) uległ osłabieniu w komórkach gruczołu śródmiąższowego oraz spermatogoniach i spermato cytach, ale tylko w grupie I. W grupach II i III nasilenie odczynu histochemicznego na G-6-PDH było takie samo jak w grupie kontrolnej. Osłabieniu uległ też w grupie I odczyn histochemiczny na aktywność 5-nukleotydyazy (5-N-azy) — głównie w spermatydach i spermato cytach różnych stadiów oraz w komórkach gruczołu śródmiąższowego Leydiga (ryc. 14 i 15). W grupach II i III nasilenie odczynu na 5-N-azę wracało do normy.

Silnemu wzmożeniu uległ odczyn histochemiczny na aktywność fosfatazy kwasnej (ACP-azy), co przejawiało się w postaci gromadzenia się znacznej ilości gruboziarnistych brązowoczarno barwiących się złogów w komórkach Leydiga oraz w niektórych komórkach nasiennych (ryc. 12 i 13). W grupie III odczyn na ACP-azę był taki sam jak w grupie kontrolnej.

Intensywne wzmożenie odczynu wykazywały także dehydrogenaza mleczanowa (LDH) i niespecyficzna esteraza (N-E) — głównie w komórkach gruczołu śródmiąższowego Leydiga. Powrót do normy w nasileniu aktywności tych enzymów następował dopiero w grupie III. Powyższym zmianom histoenzymatycznym towarzyszyło w grupach I i II osłabienie w młodszych komórkach nasiennych, a w komórkach gruczołu śródmiąższowego Leydiga osłabienie odczynów histochemicznych na DNA i RNA. Także odczyn na glikogen i substancje PAS-dodatnie wypadał w komórkach gruczołu śródmiąższowego oraz w niektórych komórkach nabłonka nasiennego słabiej niż w grupie kontrolnej. W grupach I i II stwierdzono gromadzenie się znacznej ilości lipidów barwliwych w formie drobnych kuleczek w tkance granicznej kanalików nasiennych, w nielicznych spermatogoniach przy tkance granicznej oraz głównie w komórkach gruczołu śródmiąższowego.

Znacznie cięższymi zmianami, jakie obserwowano, były zmiany histopatologiczne w gonadzie. Dotyczyły one zarówno nabłonka nasiennego kanalików krętych, jak i komórek gruczołu śródmiąższowego Leydiga. Zmianom ulegała także tkanka graniczna kanalików krętych, zwłaszcza tych, których nabłonek rozrodczy ulegał całkowitemu zanikowi. Obser-

wowane zmiany były ogniskowe bądź też rzadziej miały charakter rozlany. Widoczne były najbardziej w grupach I i II.

W nabłonku nasieniotwórczym jednym z wyraźnych, szeroko obserwowanych objawów rozwijającego się uszkodzenia było zmniejszenie się ilości plemników w świetle kanalików nasiennych. W niektórych kanalikach krętych można było stwierdzić, iż uszkodzeniu ulegają również wcześniejsze stadia procesu spermatogenezy. W niedojrzałych komórkach rozrodczych pojawiły się duże wodniczki, co prowadziło do powstania komórek o wyglądzie pęcherzykowatym, przypominających komórki tłuszczowe (ryc. 3, 4, 5). Barwienie jednak na tłuszcze i glikogen było w nich ujemne.

W innych kanalikach nasiennych pojawiły się spermatoocyty z cechami zwyrodnienia, które trudno było sklasyfikować według kryteriów odpowiadających prawidłowej spermatogenezie. Obserwowano także ogniskowe obumieranie spermatyd i spermatoocytów w różnych stadiach (leptotenów, pachytenów, zygotenów) oraz złuszczenie się tych uszkodzonych komórek do światła kanalików. W niektórych z tych kanalików obok złuszczenia zwyrodniałych komórek obserwowano liczne, czasami nieprawidłowe mitozy (ryc. 6). Zwyrodniałe i złuszczone spermatoocyty można było także zauważyć w większych ilościach w przewodach najądrza. Zdarzały się także przewody najądrza zupełnie puste (ryc. 11). Sporadycznie obserwowano w obrębie uszkodzonego nabłonka nasiennego pojedyncze wielojądrowe komórki olbrzymie (ryc. 7).

U części szczurów, zwłaszcza grupy II, ogniskowo stwierdzono całkowity zanik nabłonka nasieniotwórczego, a średnica ich kanalików uległa atrofii, zmniejszając się do ok. 80 μ . Tkanka graniczna tych kanalików była pogrubiała z zaznaczonym rozrostem włókien srebrochłonnych i sprężystych (ryc. 8 i 9).

Komórki gruczołu śródmiąższowego we wszystkich grupach wykazywały cechy rozrostu, a przy zastosowaniu barwienia wg metody Brostera i Vinesa ilość ziarenek androgennych była w nich wyraźnie zmniejszona. W jądrach większości szczurów grupy I w przestrzeniach międzykanalikowych stwierdzono obecność jednolitego, różowego PAS-dodatniego płynu (ryc. 3).

Szczury z grup I i częściowo II wykazywały w końcowej części badań mniejszą ruchliwość i obniżoną czynność biologiczną w stosunku do samic. W grupie III aktywność samców nie różniła się od grupy kontrolnej.

OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ

Przeprowadzone badania wykazały, że podawanie małych dawek Trichlorfonu przez długi okres samcom szczurzym powoduje rozwój zmian morfologicznych i histoenzymatycznych w gonadzie męskiej, prowadzą-

cych do czasowego, ogniskowego zahamowania spermat- i spermiogenezy oraz zaburzeń w czynności komórek gruczołu śródmiąższowego Leydiga, co ma swoje odbicie w osłabionej aktywności biologicznej samców szczurzych.

Lżejszą postacią widocznych zmian morfologicznych były zaburzenia w aktywności niektórych z badanych w gonadzie enzymów, zarówno w komórkach nabłonka nasiennego, jak i w komórkach gruczołu śródmiąższowego Leydiga i to głównie w tych, które w badaniach histologicznych nie wykazywały zmian lub były one minimalne. Ogniskowo ulegały osłabieniu lub nawet prawie całkowitemu zanikowi takie enzymy, jak dehydrogenaza 3- β -ol-sterydowa (HSD) i dehydrogenaza glukozy-6-fosforanowa (G-6-PDH), których aktywność histochemiczna jest morfologicznym wskaźnikiem czynności dokrewnych jądra i warunkuje aktywność seksualną (14). Osłabienie odczynu histochemicznego na 5-nukleotydzę (5-N-azę) było krótkotrwałe i występowało głównie przy równoczesnym wyraźniejszym uszkodzeniu nabłonka nasiennego kanalików oraz w sposób widoczny uzależnione było od fazy cyklu spermiogenezy, co obserwowali także inni badacze podczas badań gonady męskiej szczura pod wpływem promieniowania rtg i działania mikrofal na gonadę.

Wraz z osłabieniem aktywności wyżej wymienionych enzymów występowało wzmożenie odczynów histochemicznych na aktywność fosfatazy kwaśnej (ACP-azy), dehydrogenazy mleczanowej (LDH), oraz niespecyficznej esterazy (N-E). Wzmożony odczyn na ACP-azę występował w uszkodzonych przez Trichlorfon komórkach gruczołu śródmiąższowego Leydiga wskazując, iż substrukturalnymi, które ulegają uszkodzeniu są błony lizosomów, uwalniając kwaśne hydrolazy wtórnie uszkadzające komórkę. Podobne wyniki uzyskali Popow, Sulik i Szymański w komórkach wątrobowych szczura po ostrym i podostrym zatruciu Trichlorfonem (18). Wzmożenie odczynu histochemicznego na ACP-azę stwierdzono także po zatruciu innymi pestycydami fosforoorganicznymi (23). Jest to prawdopodobnie wynik bezpośredniego cytotoksycznego działania Trichlorfonu na komórkę. Działanie takie zostało udowodnione na hodowlach komórkowych przez Górskiego i Gąsiorowskiego (10). Stwierdzili oni, że działanie to zaczyna się bezpośrednio po podaniu Trichlorfonu i prowadzi do szybkiej zmiany odczynów histochemicznych. Po długotrwałym stosowaniu małych dawek Trichlorfonu wzmożeniu ulega także odczyn histoenzymatyczny na aktywność dehydrogenazy mleczanowej (LDH) w komórkach gruczołu śródmiąższowego Leydiga, co może świadczyć o wzmożonym metabolizmie węglowodanów w komórce. Przemawiają za tym wzmożone odczyny na LDH w komórkach gruczołu śródmiąższowego z uszkodzeniem gonady u człowieka (zespół Klinefeltera). O du-

zego stopnia uszkodzeniu komórek gruczołu śródmiąższowego świadczyć może dość trwale wzmożenie odczynu enzymatycznego na niespecyficzną esterazę (N-E) — zespół trwałych enzymów, niezwykle odpornych na czynniki uszkadzające (16). Wzmożenie odczynu histochemicznego stwierdzone zostało jednak przez niektórych badaczy po naświetlaniu gonady męskiej promieniami rtg, po działaniu mikrofal lub też po podawaniu Endoksanu i uszkodzeniu nabłonka nasiennego. Współzależność tych dwu elementów gonady męskiej od siebie jest tu bardzo widoczna (16).

Wszystkie wyżej wymienione zmiany histoenzymatyczne w gonadzie męskiej, którym towarzyszyło wzmożone odkładanie się lipidów w uszkodzonych komórkach oraz nierównomierne osłabienie odczynów histochemicznych na DNA i RNA były prawdopodobnie zmianami wcześniejszymi w stosunku do zmian histopatologicznych — zmian zwyrodnieniowych i martwiczych, zarówno w nabłonku nasiennym, jak i w komórkach gruczołu śródmiąższowego Leydiga. Zmiany takie są wynikiem ciężkiego uszkodzenia komórek nabłonka nasiennego i komórek gruczołu śródmiąższowego przez Trichlorfon. Zgadza się to z opinią Ribelina, który uważa gonadę męską za niezwykle czuły wskaźnik toksyczności podawanych związków chemicznych (19). Cytotoksyczne działanie Trichlorfonu na komórki gruczołu śródmiąższowego oraz na nabłonek nasienny gonady ma wpływ prawdopodobnie nie tylko na histoenzymatyczny i histologiczny obraz tych elementów jądra, ale także obniża funkcję seksualną organizmu zwierzęcego.

Wnioski

1. Długotrwałe stosowanie małych dawek Trichlorfonu u szczura prowadzi w gonadzie męskiej do powstania zaburzeń w niektórych z badanych układów enzymatycznych biorących udział w spermato- i spermio-geniezie oraz w prawidłowej sterydogeniezie, co wywiera zasadniczy wpływ na czynność hormonalną gruczołu śródmiąższowego, uchwytłą w badaniu histochemicznym.

2. Pod wpływem stosowanego Trichlorfonu nastąpiło osłabienie odczynu histochemicznego na DNA, RNA, glikogen i substancje PAS-dodatnie w komórkach gruczołu śródmiąższowego Leydiga oraz w komórkach nabłonka nasiennego z jednoczesnym odkładaniem się lipidów w tych elementach jądra.

3. Wzmożeniu uległ odczyn histoenzymatyczny na aktywność fosfatazy kwaśnej, dehydrogenazy mleczanowej i niespecyficznej esterazy. Jednocześnie osłabieniu uległ odczyn histoenzymatyczny na aktywność dehydrogenazy glukozy-6-fosforanowej, dehydrogenazy 3- β -ol-sterydowej i 5-nukleotydu.

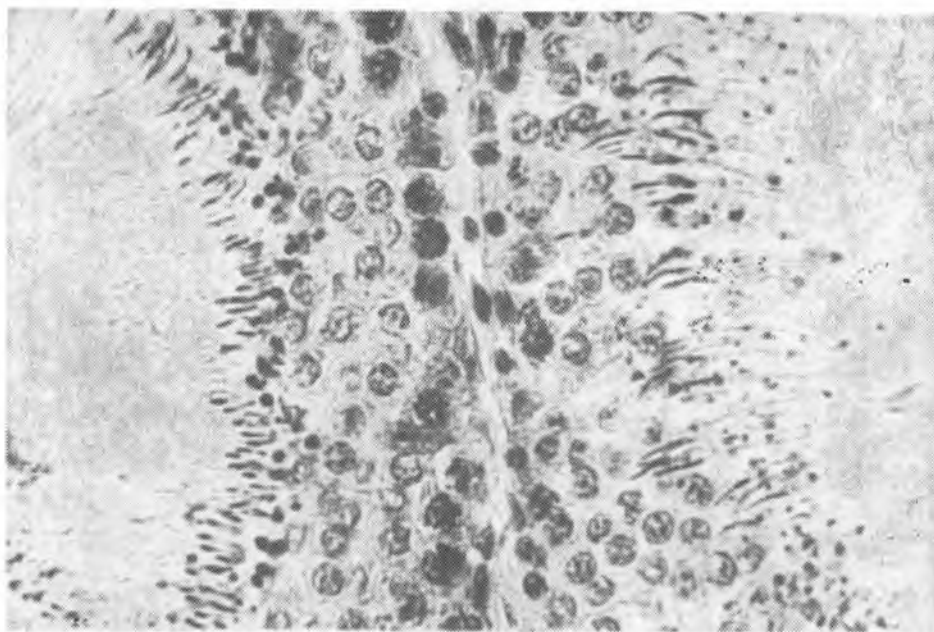
4. Pod wpływem Trichlorfonu rozwinęły się także w jądrze ciężkie zmiany histopatologiczne: zwyrodnieniowe i martwicze w nabłonku nasiennym, głównie dotyczące wczesnych okresów dojrzewania spermato-cytów, co prowadziło do zaburzeń podziału mejotycznego i do zahamowania spermat- i spermiogenezy. W gruczole śródmiaższowym dochodziło do umiarkowanego ogniskowego rozrostu.

5. Zmiany powyższe były odwracalne pod warunkiem, iż nie doszło do całkowitego zaniku nabłonka nasiennego w kanalikule nasiennym.

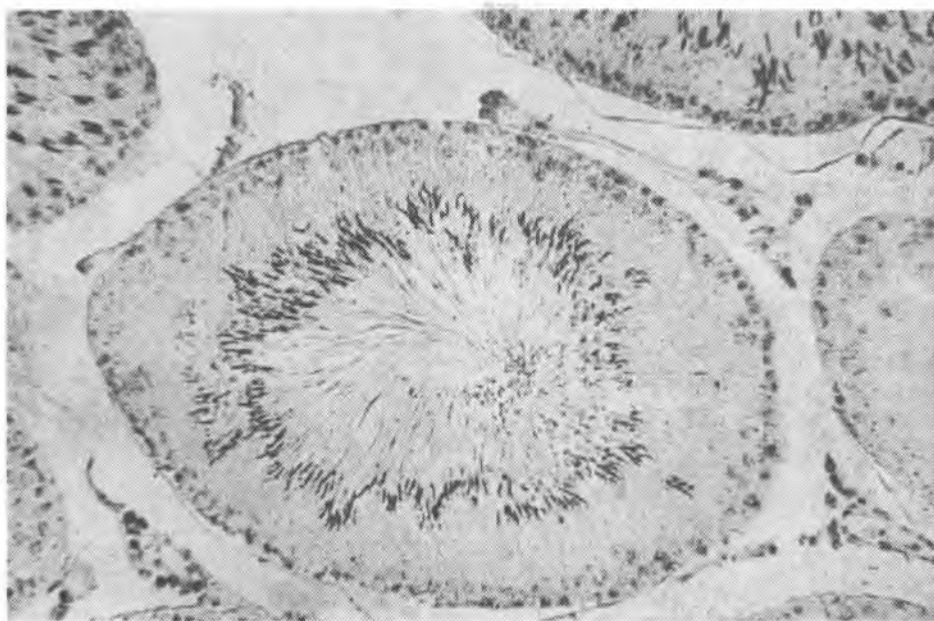
6. Waga jąder nie może być uważana w przypadku powyższych badań za wskaźnik uszkodzenia gonady, gdyż analiza statystyczna ciężaru jąder szczurów z grup doświadczalnych i kontrolnych nie wykazała istotnych różnic.

PIŚMIENNICTWO

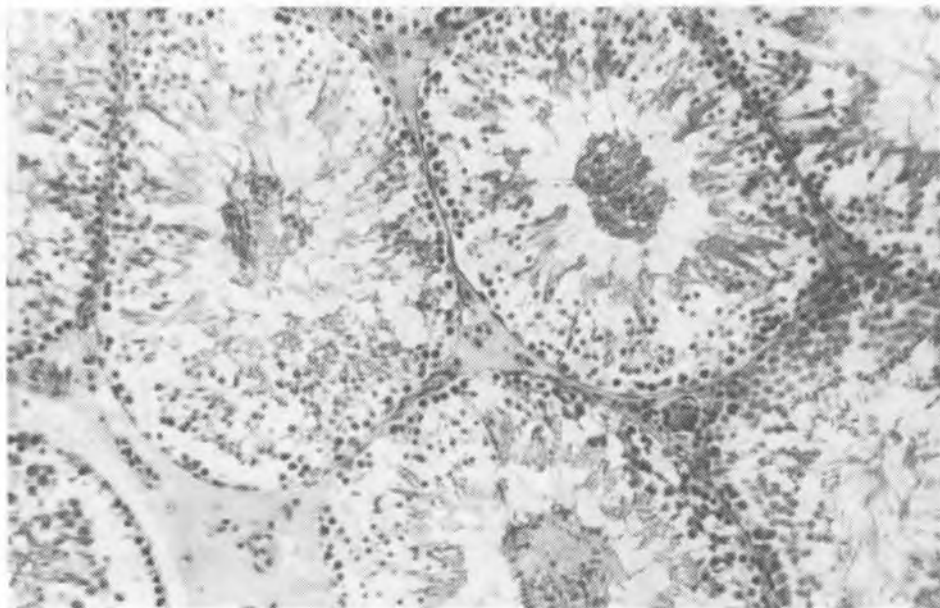
1. Beat V. J.: *Am. Vet. Med. Assoc.* **157**, 1835—1840, 1970.
2. Clermont Y., Leblond C.: *Am. J. Anat.* **96**, 229—250, 1955.
3. Conney, Welch R., Kuntzman R., Burns J.: *Clin. Pharmacol. Ther.* **8**, 2—10, 1967.
4. Collins T., Hansen W., Keeler H.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **19**, 202—216, 1971.
5. Datta K., Dikshith T.: *Exp. Path.* **8**, 363—370, 1973.
6. Deichman N., Keplinger M.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **8**, 337—338, 1966.
7. Dikshith T., Datta K.: *Exp. Path.* **7**, 309—316, 1972.
8. Durham W., Williams C.: *Ann. Rev. Entomol.* **17**, 123—148, 1972.
9. Espir M., Hall J., Shirrefs J., Stevens D.: *Brit. med. J.* **1**, 423—425, 1970.
10. Górski M., Gąsiorowski A.: *Lek. wojsk.* **48**, 884—888, 1972.
11. Hayes W.: *Ann. N. Y. Science* **160**, 40—52, 1969.
12. Kugaczewska M., Piekarski L., Szutowski M., Trzaskowski J., Ziemiński R.: *Bromat.* **5**, 473—479, 1972.
13. Leblond C., Clermont Y.: *Am. J. Anat.* **90**, 167—216, 1952.
14. Levy H., Deane W., Rubin B.: *Endocrin.* **65**, 932—945, 1959.
15. *Medical News-Tribune, Art. red.* **1**, 21, 1969.
16. Niemi M., Harkonen M., Ikonen M.: *Endocrin.* **7**, 294—300, 1966.
17. Peck A.: *Brit. med. J.* **1**, 690, 1970.
18. Popow J., Sulik M., Szymański A.: *Lek. wojsk.* **48**, 362—366, 1972.
19. Ribelin A.: *Arch. Path.* **75**, 229—235, 1963.
20. Rumsey T., Cabell C., Bond J.: *Am. J. Vet. Res.* **30**, 2209—2214, 1969.
21. Rusiecki W.: *Toksykologia środków ochrony roślin. PZWL, Warszawa 1973*, 75—100.
22. Rusiecki W.: *Bromat. Chem. Toksykol.* **6**, 492—493, 1973.
23. Szczurek Z.: *Med. Pracy* **25**, 221—224, 1974.
24. Wattenberg L.: *J. Histochem. Cytochem.* **6**, 225—232, 1958.
25. Wiśniewski K., Szymański A., Panek R.: *Bromat. Chem. Toksykol.* **6**, 145—152, 1973.



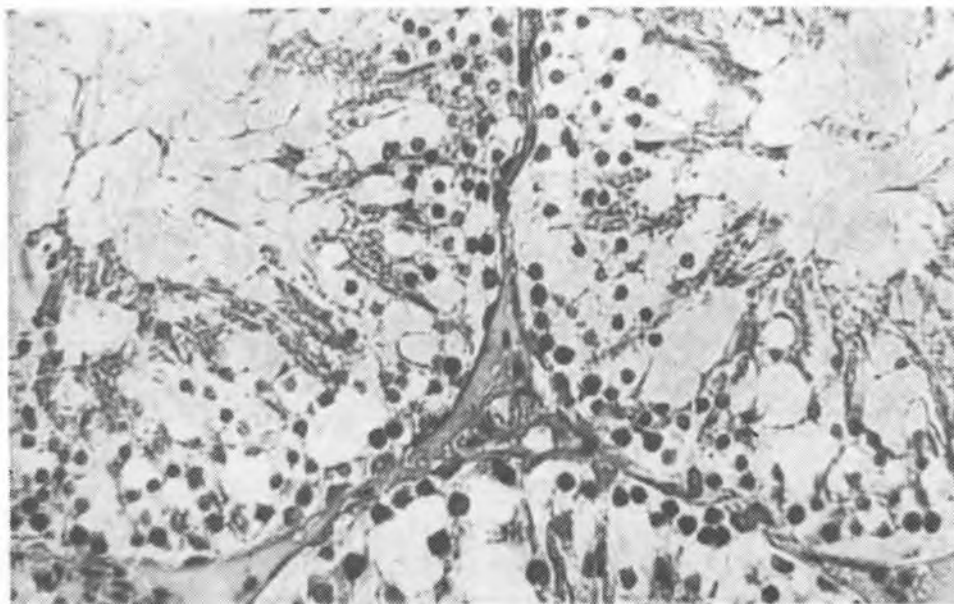
Ryc. 1



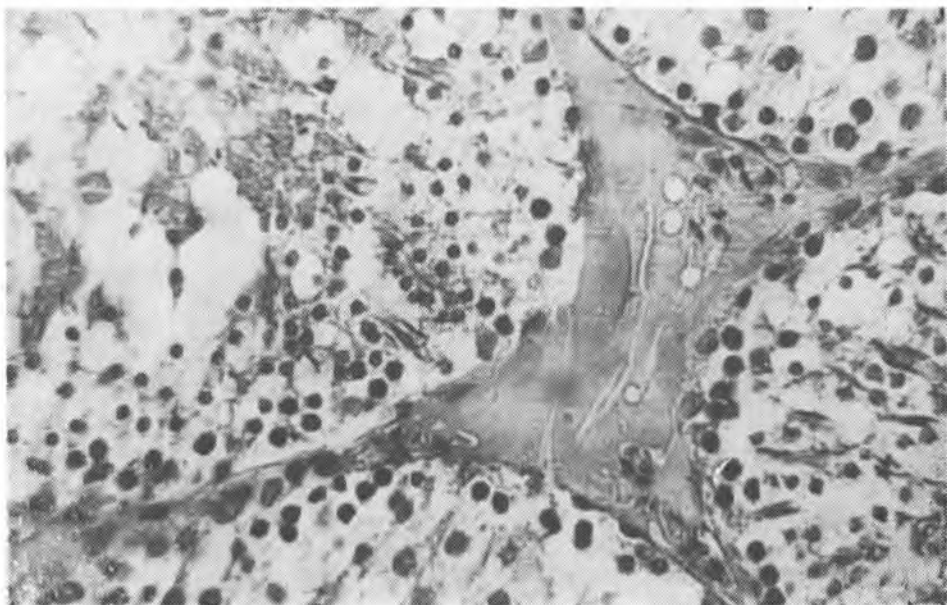
Ryc. 2



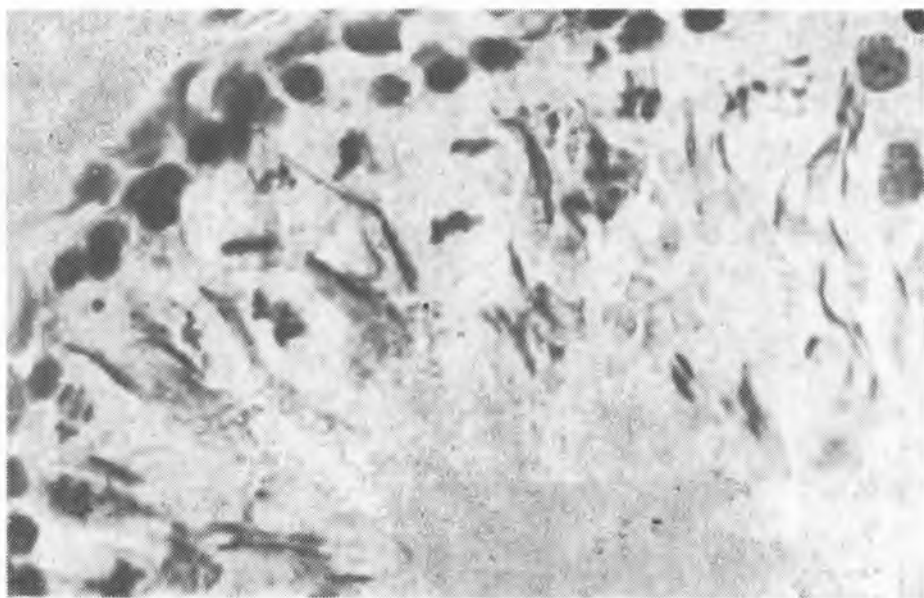
Ryc. 3



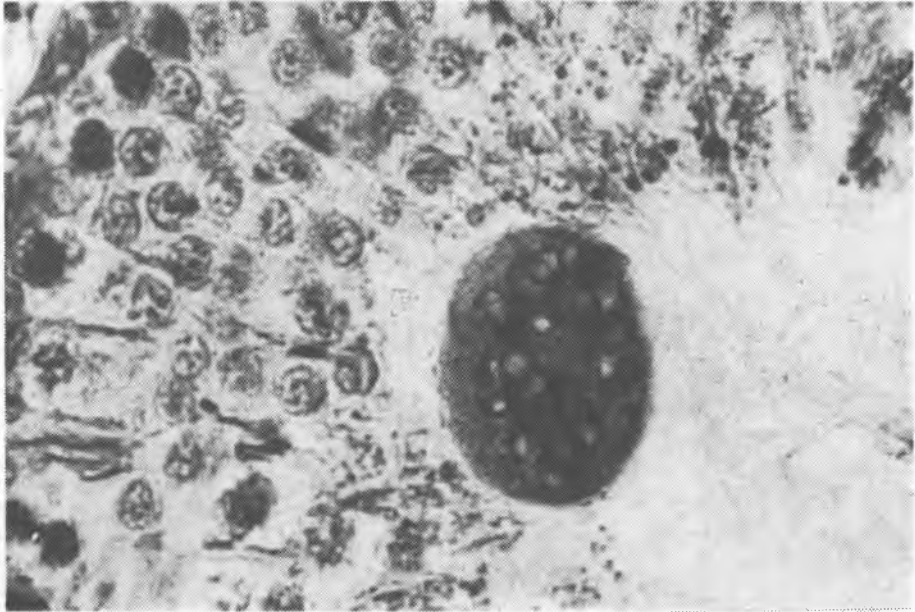
Ryc. 4



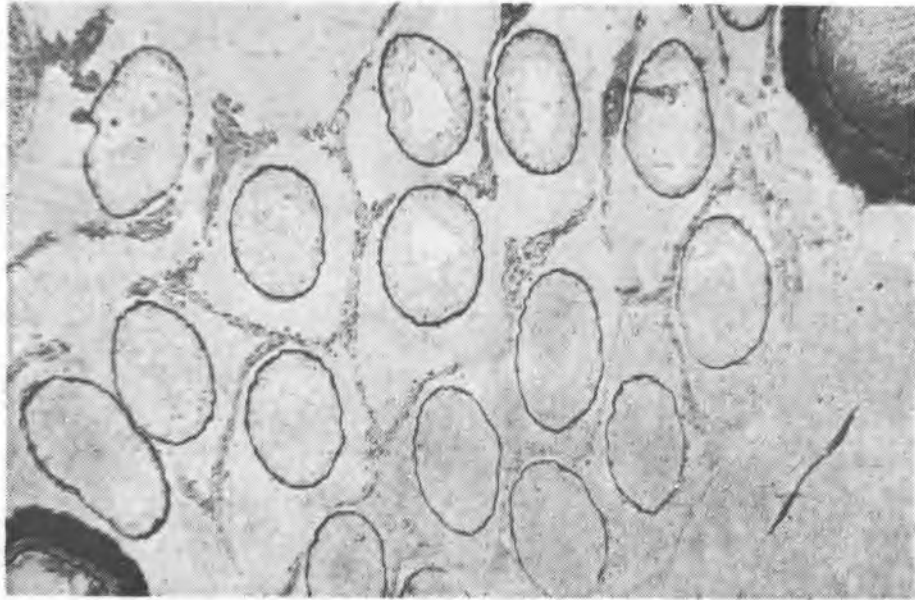
Ryc. 5



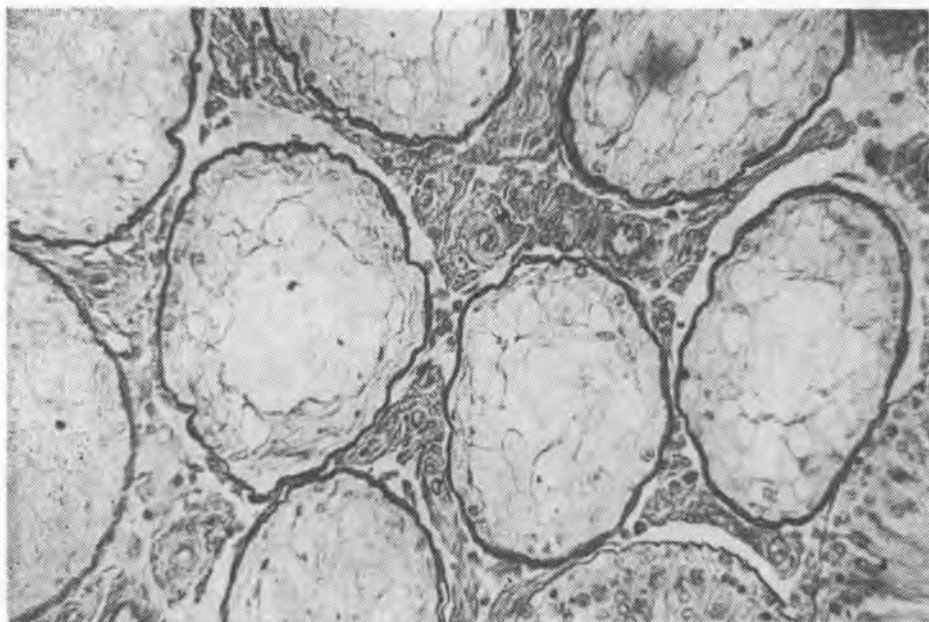
Ryc. 6



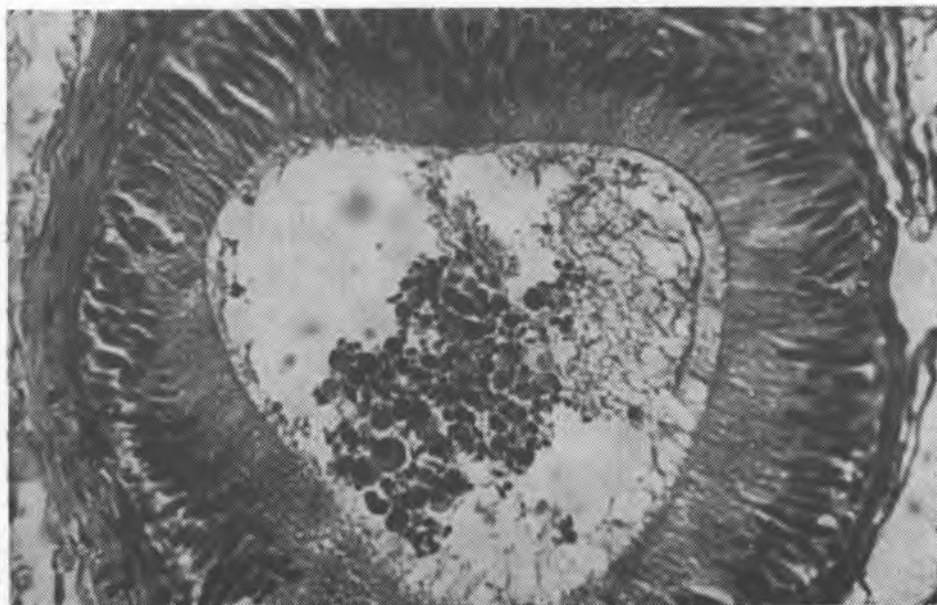
Ryc. 7



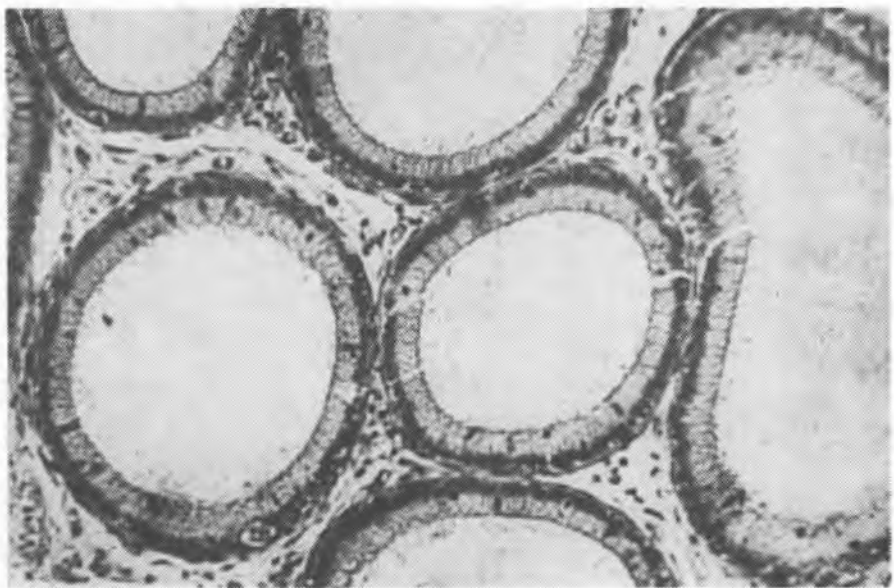
Ryc. 8



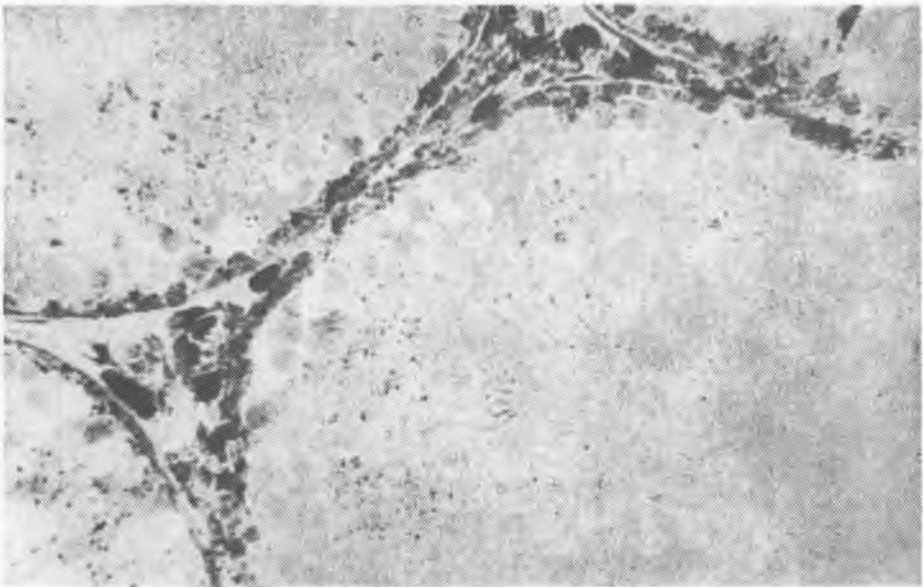
Ryc. 9



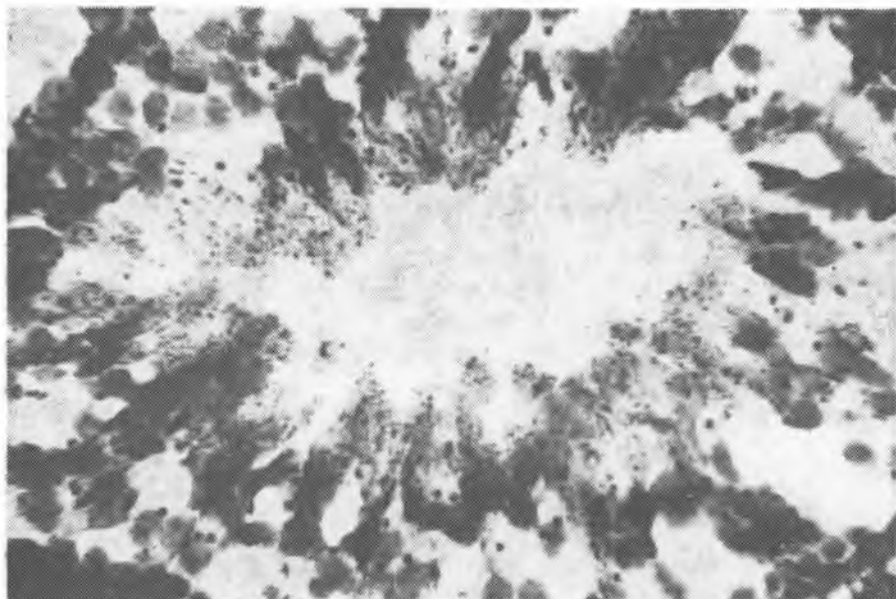
Ryc. 10



Ryc. 11



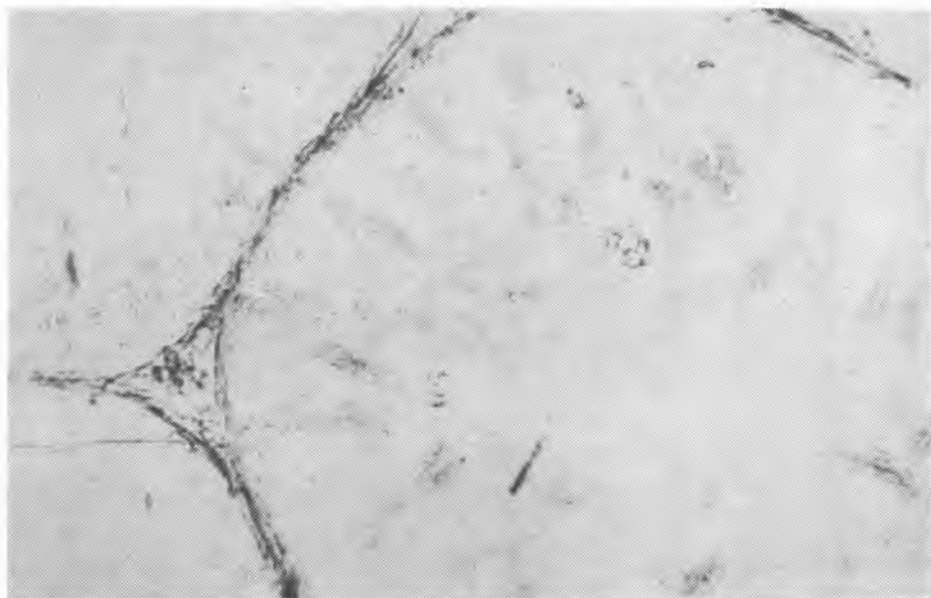
Ryc. 12



Ryc. 13



Ryc. 14



Ryc. 15

26. Wolfe H., Armstrong J., Staiff D., Comer S.: Arch. Environ. Health 25, 29—31, 1972.
27. Wolfe H.: Pest control. 40, 17—42, 1972.

Otrzymano 21 VII 1978.

OBJAŚNIENIA RYCIŃ

Ryc. 1. Grupa IV (kontrolna). Prawidłowy układ komórek rozrodczych w kanalikach nasiennych z widoczną generacją spermatocytów spoczynkowych, pachytenów, spermatyd i plemników. Barw. H+E. Pow. 400×.

Ryc. 2. Grupa IV (kontrolna). Poprzecznie przecięte kanaliki nasienne, z wybiórczo zabarwionymi plemnikami, z witkami skierowanymi do światła kanalików. Barw. safranina. Pow. ok. 300×.

Ryc. 3. Grupa I. Zwyródnienie wodniczkowe w komórkach nabłonka nasiennego. Zaznaczone zahamowanie spermiogenezy i zluszczenie się spermatocytów. Barw. H+E. Pow. 200×.

Ryc. 4. Grupa I. Liczne duże wodniczki w nabłonku nasiennym kanalików krętych. Brak generacji pachytenów i zygotenów w nabłonku nasiennym. Barw. H+E. Pow. 400×.

Ryc. 5. Grupa I. Zwyródnienie i martwica komórek nabłonka nasiennego. Widoczny płyn obrzękowy w przestrzeniach międzykanalikowych. Barw. H+E. Pow. 400×.

Ryc. 6. Grupa I. Silnie zaznaczone zmiany zwyródnieniowe i martwicze w młodszych generacjach komórek nabłonka nasiennego oraz nieprawidłowe figury podziału. Barw. H+E. Pow. 600×.

Ryc. 7. Grupa II. Widoczna wielojądrowa komórka olbrzymia, powstała ze spermatocytów wyrodniejącego nabłonka nasiennego. Barw. H+E. Pow. 600×.

Ryc. 8. Grupa III. Ogniskowy całkowity zanik nabłonka nasiennego. Płyn obrzękowy w przestrzeniach międzykanalikowych. Barw. H+E. Pow. 90×.

Ryc. 9. Grupa III. Kanaliki zanikowe zawierające tylko komórki Sertoliego. Zaznaczony rozrost komórek gruczołu śródmiąższowego i tkanki granicznej kanalików. Barw. H+E. Pow. 150×.

Ryc. 10. Grupa III. W przewodzie najądrza widoczne bardzo liczne niedojrzałe i zwyródniałe, zluszczone komórki rozrodcze. Barw. H+E. Pow. 400×.

Ryc. 11. Grupa II. Widoczne przekroje poprzeczne przez zupełnie puste przewody najądrza. Barw. H+E. Pow. 200×.

Ryc. 12. Grupa IV (kontrolna). Fosfataza kwaśna (ACP-aza). Dość silny odczyn histochemiczny w komórkach gruczołu śródmiąższowego. Słaby odczyn w spermatocytach spoczynkowych nabłonka nasiennego. Odczyn Gomoriego. Pow. 400×.

Ryc. 13. Grupa II. Fosfataza kwaśna (ACP-aza). Bardzo silne wzmożenie odczynu histochemicznego w komórkach Sertoliego. Odczyn Gomoriego. Pow. 400×.

Ryc. 14. Grupa IV (kontrolna). 5-nukleotydaza (5-N-aza). Najsilniejszy odczyn histochemiczny widoczny jest w spermatydach. Pozostałe komórki wykazują umiarkowaną aktywność na obwodzie komórek. Wachstein i Meisel. Pow. 400×.

Ryc. 15. Grupa II. 5-nukleotydaza (5-N-aza). Widoczne osłabienie odczynu histochemicznego na 5-N-azę w komórkach nabłonka nasiennego. Wachstein i Meisel. Pow. 400×.

РЕЗЮМЕ

В данной работе автор представил результаты исследований влияния длительного применения малых доз повсеместно использованного фосфоорганического инсектицида — Трихлорфона, на микроструктуру мужской гонады белой крысы. Под влиянием Трихлорфона, применяемого в течение 3 месяцев в дозе 1/15 LD₅₀, развиваются в мужской гонаде крысы гистоэнзиматические и гистопатологические изменения, вызывающие понижение биологической активности самцов. Изменения выступили как в сперматогенном эпителии крутых канальцев, так и в интерстициальной железе Лейдига. Они проявлялись понижением гистохимических реакций на: нуклеиновые кислоты DNA и RNA, гликоген и PAS-положительные вещества, 3-β-оль-стеридовую дегидрогеназу, дегидрогеназу глюкозо-6-фосфорановую (G-6-PDH) и 5-нуклеотидазу (5-N-азу). Одновременно под влиянием Трихлорфона выступало в гонаде повышение гистоэнзиматических реакций на кислую фосфатазу (ACP-азу), дегидрогеназу лактатную (LDH) и на неспецифическую эстеразу (N-E). В поврежденных клетках семенного эпителия и в клетках интерстициальной железы откладывались пигментные липиды.

Под влиянием применяемого Трихлорфона возникали очаговые серьезные гистопатологические изменения: дегенерация и некроз в семенном эпителии с заторможением спермато- и спермиогенеза. Выступает также умеренное заместительное разрастание клеток интерстициальной железы Лейдига. Изменения эти обратимые и уступают со временем после прекращения применения Трихлорфона.

SUMMARY

The author presented the results of his examinations on the effect of a long-term experimental administration of low doses of phosphorous insecticide, Trichlorfon, on the microstructure of the testis in the white rat. Trichlorfon in a dose of 1/15 LD₅₀ administered for a period of three months caused histoenzymatic and histopathologic changes resulting in a decreased biological activity in male rats. The changes were observed both in the seminiferous tubules and in Leydig interstitial cells. The changes resulted in decreased histochemical reactions to nucleic acids DNA and RNA, glycogen and PAS-positive substances, steroid 3-β-ol-dehydrogenase, G-6-P-dehydrogenase (G-6-PDH) and 5-nucleotidase (5-N). In the testis Trichlorfon increased the histoenzymatic reactions to acid phosphatase (ACP), lactic dehydrogenase (LDH) and non-specific esterase (N-E). In the injured cells of the seminiferous tubules and in the Leydig interstitial cells an accumulation of lipids was observed.

Trichlorfon caused severe, focal degenerative and necrotic lesions in the seminiferous tubules and inhibited spermat- and spermiogenesis. A moderate, substantial proliferation of the Leydig interstitial cells was also observed. The above changes were reversible and retreated after the discontinued application of Trichlorfon.

EXPLANATION TO FIGURES

Fig. 1. Group IV (control). Normal distribution of germ cells in seminiferous tubules with visible spermatocytes, pachytenes, spermatids and spermatozoa. Haematoxylin and eosin. Magn. 400X.

Fig. 2. Group IV (control). Cross-sectioned seminiferous tubules with selectively stained spermatozoa with tails directed inside the tubules. Safranin. Magn. 300×.

Fig. 3. Group I. Vacuolized degeneration in the cells of the seminiferous epithelium. Visible inhibited spermiogenesis and exfoliated spermatocytes. HE. Magn. 200×.

Fig. 4. Group I. Numerous large vacuoles in the seminiferous epithelium of tubules. Absence of pachytene and zygotene in the seminiferous epithelium. HE. Magn. 400×.

Fig. 5. Group I. Degeneration and necrobiosis of the cells in the seminiferous epithelium. HE. Magn. 400×.

Fig. 6. Group I. Severe degenerative and necrotic lesions in the young cells of the seminiferous epithelium and abnormal mitotic figures. HE. Magn. 600×.

Fig. 7. Group II. Visible a multinucleated giant cell formed of spermatocytes of a degenerated seminiferous epithelium. HE. Magn. 600×.

Fig. 8. Group III. Focal atrophy of a seminiferous epithelium. Oedematous liquid is visible among seminiferous tubules. HE. Magn. 90×.

Fig. 9. Group III. Atrophic seminiferous tubules contain only Sertoli cells. Visible proliferation of the interstitial cells and of the basement membrane of the epithelium. HE. Magn. 150×.

Fig. 10. Group III. In ductus epididymis visible numerous young and degenerated exfoliated germ cells. HE. Magn. 400×.

Fig. 11. Group II. Visible cross-sections through empty ductus epididymis. HE. Magn. 200×.

Fig. 12. Group IV (control). Acid phosphatase. Strong histochemical reaction in the interstitial cells. Weak reaction in spermatocytes of the seminiferous epithelium. Gomori. Magn. 400×.

Fig. 13. Group II. Acid phosphatase (ACP). Increased histochemical reaction in Sertoli cells. Gomori. Magn. 400×.

Fig. 14. Group IV (control). 5-nucleotidase. The strongest histochemical reaction is visible in spermatids. The remaining cells show moderate activity on the circumference of the cells. Wachstein and Meisel. Magn. 400×.

Fig. 15. Group II. 5-nucleotidase. Decreased histochemical reaction to 5-nucleotidase in the cells of the seminiferous epithelium. Wachstein and Meisel. Magn. 400×.

