

I Klinika Ginekologii i Operacyjnej. Instytut Położnictwa i Chorób Kobiectych.
Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: doc. dr hab. med. Henryk Żrubek

Marian SEMCZUK

**Badania histochemiczne gonady męskiej szczura białego
w warunkach długotrwałego podawania alkoholu etylowego**

Гистохимические исследования яичек белых крыс в условиях длительного
применения этилового алкоголя

Histochemical Investigations of a White Rat Testicle in Conditions
of Long-lasting Administration of Ethyl Alcohol

Badania doświadczalne Farella (8) ujawniły, że spożyty alkohol etylowy przedostaje się do gonady męskiej i płynu nasiennego, gdzie w fazie poresorpcyjnej stężenie jego jest wyższe niż we krwi (7, 12). Alkohol etylowy jako toksyna komórkowa poprzez denaturację białek przyczynia się do bezpośredniego uszkodzenia komórek.

Leuchtenberger i wsp. (17, 18) jako pierwsi sugerowali, że zmniejszona zawartość kwasu dezoksyrybonukleinowego w plemnikach mężczyzn może być przyczyną obniżonej ich płodności. Późniejsi badacze stwierdzali obniżenie zawartości tego związku w plemnikach mężczyzn nieplodnych (11, 26), inni zaś nie znajdowali istotnej różnicy (27). Obok kwasów nukleinowych węglowodany i mukopolisacharydy są substancjami niezbędnymi do prawidłowego metabolizmu komórek nabłonka plemnikotwórczego (10, 15).

Nie prowadzono dotychczas badań nad zawartością i rozmieszczeniem kwasów nukleinowych oraz wielocukrów w komórkach gonady męskiej w warunkach intoksykacji alkoholowej. Jedynie we wcześniejszych badaniach własnych metodami chemicznymi oznaczano zawartość kwasów nukleinowych w plemnikach przewlekłych alkoholików (23).

W obecnej pracy zastosowano metody histochemiczne do wykrywania rozmieszczenia kwasów nukleinowych oraz wielocukrów w komórkach gonady zwierząt podanych przewlekłej intoksykacji alkoholowej.

MATERIAŁ I METODA

Badania przeprowadzono na 64 szczurach, samcach szczepu Wistar w wieku 3—4 miesięcy i początkowym ciężarze ciała 150—200 g. Obserwowane zwierzęta podzielono na 4 grupy doświadczalne, ustalając dla każdej grupy alkoholizowanych

zwierząt oddzielną grupę kontrolną. Uczyniono to w celu wyeliminowania ewentualnego wpływu wieku zwierząt na obraz histologiczny gonady. Każdą z grup doświadczalnych stanowiło 10 szczurów, a kontrolną 6 zwierząt.

W poszczególnych grupach czas trwania doświadczenia wynosił odpowiednio: 13, 51, 102 i 204 dni; uwzględniono fakt, że jeden cykl płciowy u szczura rasy Wistar trwa 13 dni, a cała spermatogeneza 52 dni (5).

Przez cały czas trwania doświadczenia zwierzęta przebywały w warunkach naturalnego oświetlenia, w pojedynczych klatkach. Karmione były paszą granulowaną „LSM”, a do picia podawano im wodę w dowolnych ilościach. Szczury grup doświadczalnych niezależnie od tego otrzymywały przez sondę codziennie rano na czczo 40% alkohol etylowy w dawce 3 g/kg c.c. Ostatnią dawkę alkoholu podawano 24 godz. przed zabiciem.

Utrwalone wycinki gonad zwierząt krojono na mikrotomie na skrawki mikroskopowe grubości 10—12 μ .

W celu wykazania kwasu rybonukleinowego (RNA) skrawki jąder barwiono metodą Bracheta, a następnie przeprowadzano wytrawianie skrawków rybonukleazą. Obecność i rozmieszczenie kwasu dezoksyrybonukleinowego wykrywano — uznaną za klasyczną — metodą Feulgena-Rosenbecka. W celu uwidocznienia wielocukrów stosowano metodę PAS (1).

WYNIKI BADAŃ

Grupa kontrolna

W preparatach jąder barwionych na obecność kwasu rybonukleinowego cytoplazma spermatogonii zawiera odczyn ziarnisty o jednolitym zabarwieniu. W cytoplazmie spermatocytów I rzędu występują liczne, gęsto obok siebie ułożone ziarenka kwasu rybonukleinowego, dające intensywną reakcję barwną. W jądrach tych komórek obecne są duże, silnie barwiące się jąderka. W spermatocytach II rzędu obserwuje się nieznacznie słabszą reakcję barwną w porównaniu ze spermatocytami I rzędu, mniejsze jąderka, które często są zupełnie niewidoczne. W młodych spermatydach odczyn na obecność kwasu rybonukleinowego jest bardzo słaby, o charakterze dyfuzyjnym. Odczyn w jąderkach posiada bladoróżowe zabarwienie. W spermatydach starszych reakcja barwna jest silniejsza, w ich cytoplazmie pojawiają się małe, bladoróżowe ziarnistości, świadczące o obecności tego kwasu. Witki plemników wykazują odczyn dodatni. Cytoplazma komórek Sertoliego ma bladoróżowe zabarwienie, natomiast w jądrze stwierdza się obecność dużego jąderka, bogatego w kwas rybonukleinowy. W ciałkach reszkowych, skupionych w świetle kanalików, obserwuje się odczyn dodatni. W cytoplazmie niektórych komórek Leydiga obecne są ziarenka dające pozytywną reakcję barwną (ryc. 1).

W preparatach jąder barwionych na obecność kwasu dezoksyrybonukleinowego obserwuje się wyraźnie dodatni odczyn ziarnisty w sperma-

togoniach oraz spermatocytach I i II rzędu. W spermatydach brak dodatniej reakcji Feulgena, natomiast bardzo intensywnie jest ona wyrażona w główkach plemników. W komórkach Sertoliego o pozytywnym odczynie na obecność kwasu dezoksyrybonukleinowego świadczą drobne ziarnistości, natomiast w jądrach komórek Leydiga obecność grubych, silnie wybarwionych ziarnistości (ryc. 2).

Najintensywniejszą reakcję barwną PAS wykazuje tkanka graniczna kanalików, przednia część główki plemników oraz akrosom, zwłaszcza starszych spermatyd. Błony komórkowe wykazują także pozytywną reakcję barwną. W cytoplazmie spermatogonii liczne są ziarnistości PAS dodatnie, których liczba maleje w spermatocytach I, a następnie II rzędu. W cytoplazmie komórek Sertoliego odczyn PAS jest słabszy w porównaniu z komórkami plemnikotwórczymi i ma charakter dyfuzyjny. W komórkach Leydiga obecne są duże ziarnistości, intensywnie PAS dodatnie. Ciała resztkowe wykazują wyraźną reakcję PAS (ryc. 3).

Grupa I doświadczalna

Odczyn na obecność kwasu rybonukleinowego, dezoksyrybonukleinowego i reakcja PAS w skrawkach jąder zwierząt grupy I nie różnią się od grupy kontrolnej.

Grupa II doświadczalna

W komórkach plemnikotwórczych, Sertoliego oraz komórkach dwu- i wielojądrzastych zwierząt grupy II reakcja na obecność kwasu rybonukleinowego okazała się bardzo podobna do uzyskanej w grupie kontrolnej i I doświadczalnej. Natomiast w komórkach Leydiga zaobserwowano zmianę nasilenia i charakteru odczynu, w przeważającej liczbie komórek stał się on słabszy, dyfuzyjny w porównaniu z grupami opisywanymi poprzednio (ryc. 4). W komórkach złuszczonych do światła kanalików stwierdza się pozytywną reakcję barwną.

Odczyn na obecność kwasu dezoksyrybonukleinowego w obserwowanych komórkach jąder zwierząt grupy II nie wykazuje uchwytnych różnic w porównaniu z grupami omawianymi poprzednio. W komórkach złuszczonych do światła kanalików występuje dodatnia reakcja Feulgena.

Intensywna reakcja PAS cechuje tkankę graniczną oraz przednie odcinki główek plemników. W cytoplazmie spermatogonii oraz spermatocytów I i II rzędu ziarn PAS dodatnich spostrzega się niewiele, odczyn ma charakter dyfuzyjny, jednakowo nasilony we wszystkich wyżej wymienionych komórkach. W spermatocytach reakcja PAS jest wyraźnie słab-

sza w porównaniu z grupami omawianymi poprzednio. Obserwuje się szereg spermatyd, gdzie w akrosomie nie wykazano dodatniej reakcji PAS. W poszczególnych kanalikach liczba spermatyd bez reakcji w akrosomie, ze słabą czy wyraźną reakcją przedstawia się różnie. Główki plemników są PAS pozytywne. Wyraźną reakcję barwną obserwuje się w komórkach Sertoliego, dwu- i wielojądrzastych komórkach złuszczonych do światła kanalików i ciałkach reszkowych. W cytoplazmie komórek Leydiga poza pojedynczymi ziarnami PAS dodatnimi obecne są miejsca z bladoróżowym odczynem dyfuzyjnym (ryc. 5).

Grupa III doświadczalna

Reakcja barwna na obecność kwasu rybonukleinowego w spermatogoniach, spermatocytach I i II rzędu oraz w komórkach Sertoliego okazała się podobna do obserwowanej w grupach poprzednich. Natomiast w cytoplazmie spermatyd, wtkach plemników i ciałkach reszkowych widoczne jest osłabienie reakcji barwnej. W cytoplazmie komórek Leydiga nie stwierdza się odczynu ziarnistego, jedynie bardzo nikły odczyn dyfuzyjny.

Odczyn na obecność kwasu dezoksyrybonukleinowego w obecnie analizowanej grupie nie różnił się wyraźnie od stwierdzonego w grupie II doświadczalnej.

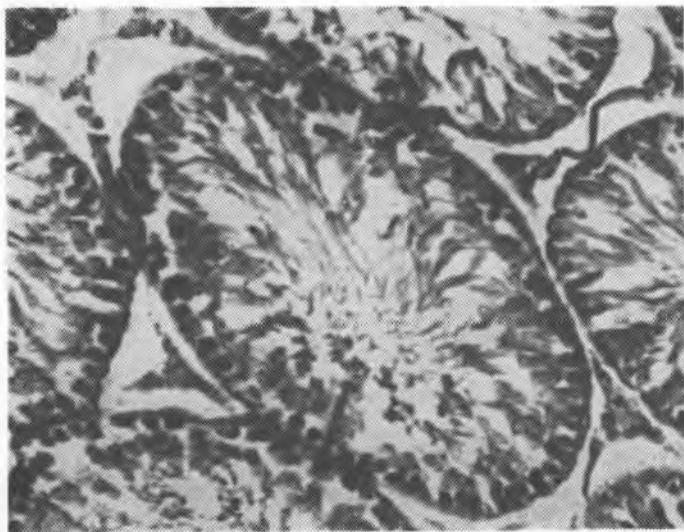
Reakcja PAS zarówno w tkance granicznej kanalików, jak i we wszystkich komórkach okazała się słabsza w porównaniu z obserwowaną w grupie II. Mniej jest akrosomów z wyraźną reakcją PAS. Wakuole cytoplazmatyczne wykazują osłabienie odczynu barwnego w porównaniu z resztą cytoplazmy (ryc. 6).

Grupa IV doświadczalna

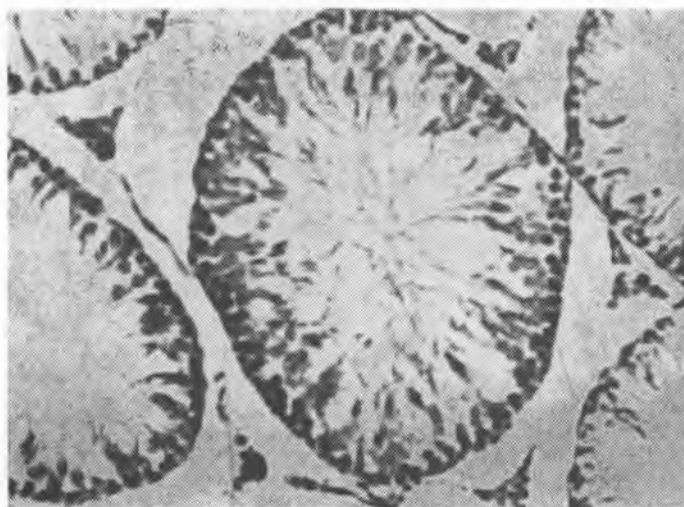
W cytoplazmie wszystkich komórek kanalika krętego obserwuje się znaczne osłabienie odczynu barwnego na obecność kwasu rybonukleinowego. Jedynie w niektórych jąderkach widoczna jest prawidłowa reakcja barwna. Blade zabarwienie cytoplazmy komórek Leydiga i Sertoliego wskazuje na zmniejszenie zawartości kwasu rybonukleinowego w tych komórkach (ryc. 7).

We wszystkich obserwowanych komórkach plemnikotwórczych zwierząt grupy IV doświadczalnej obserwuje się osłabienie reakcji Feulgena. Główki plemników wykazują dodatnią reakcję barwną. W komórkach Leydiga obecny jest dodatni odczyn w postaci grubych, silnie wybarwionych ziarnistości (ryc. 8).

W omawianej grupie obserwuje się ścieńczenie tkanki granicznej oraz osłabienie w niej reakcji PAS. W cytoplazmie wszystkich generacji ko-



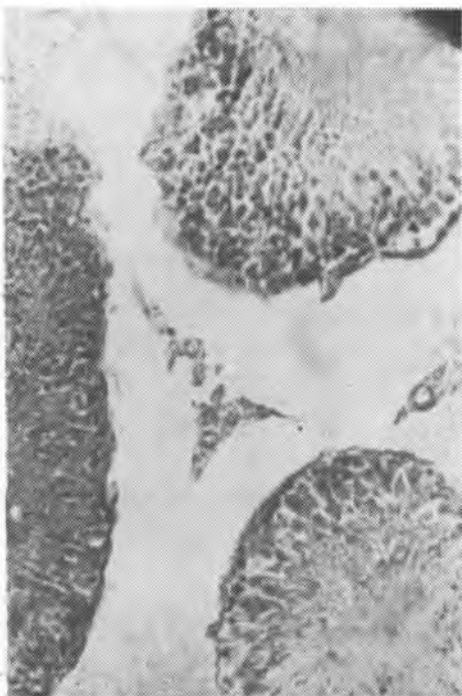
Ryc. 1



Ryc. 2



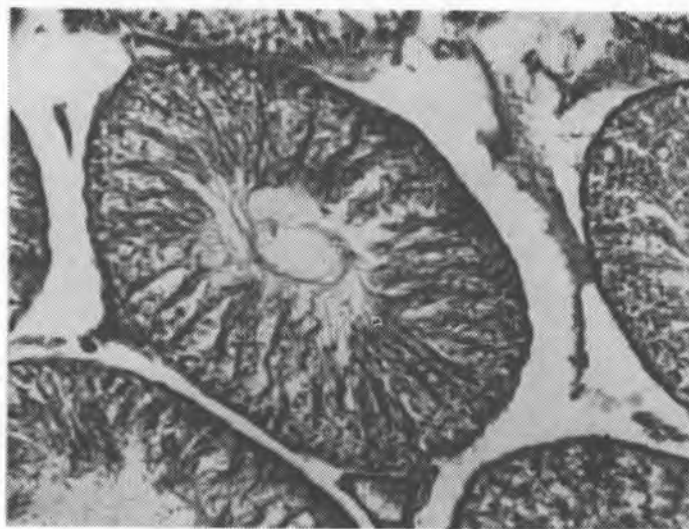
Ryc. 3



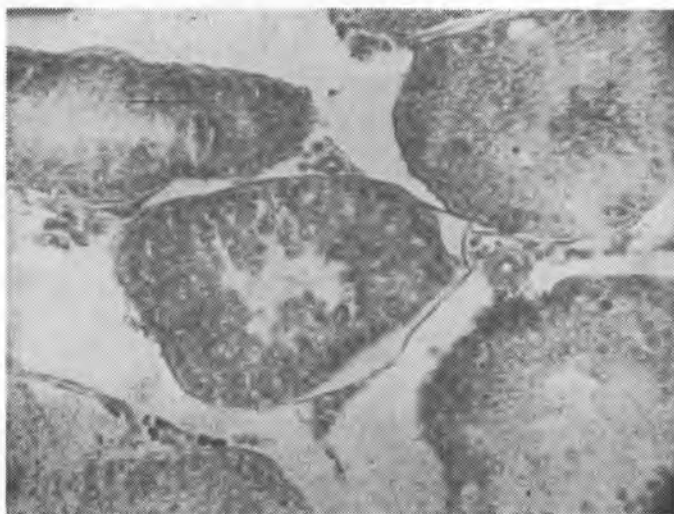
Ryc. 4



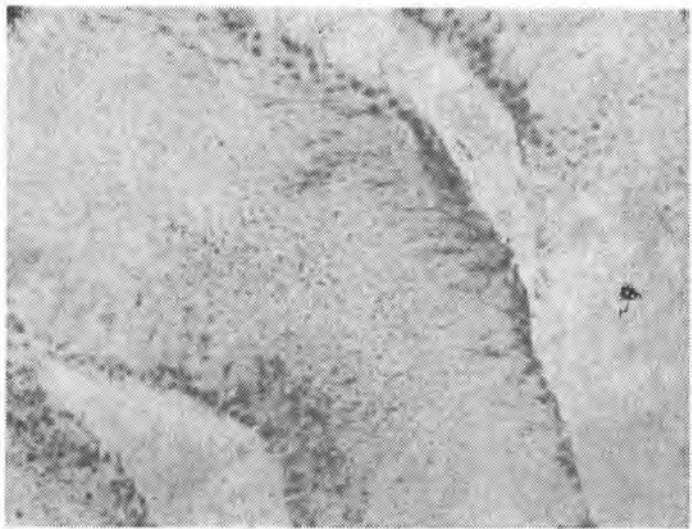
Ryc. 5



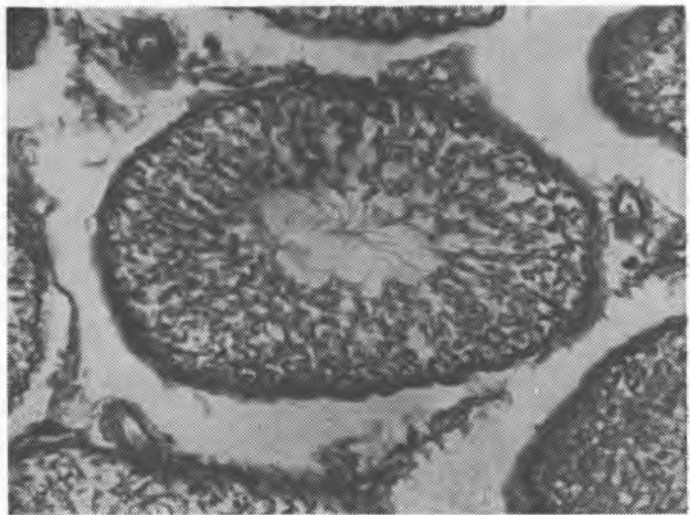
Ryc. 6



Ryc. 7



Ryc. 8



Ryc. 9

mórek rozrodczych notuje się jedynie słaby odczyn dyfuzyjny. Rzadko widoczne są PAS pozytywne akrosomy. Najintensywniejszą reakcję barwną PAS obserwuje się w główkach plemników. Stopień nasilenia reakcji barwnej w ciałkach reszkowych i komórkach złuszczonych do światła kanalików okazał się podobny do obserwowanego w grupie III. W komórkach Sertoliego spostrzega się osłabienie odczynu barwnego, zaś w cytoplazmie niektórych tylko komórek Leydiga obserwuje się PAS dodatnie ziarnistości (ryc. 9).

OMÓWIENIE WYNIKÓW

W komórkach nabłonka plemnikotwórczego badanych zwierząt po 51 dniach podawania alkoholu etylowego obserwuje się bardzo nieznaczne osłabienie odczynu Feulgena, a wyraźniejsze osłabienie dopiero w grupie zwierząt alkoholizowanych najdłużej. Zwraca również uwagę, że niezależnie od czasu alkoholizowania, nie stwierdza się zmian w zawartości kwasu dezoksyrybonukleinowego w komórkach Leydiga. Osłabienie zaś reakcji na obecność kwasu rybonukleinowego obserwuje się już w grupie zwierząt alkoholizowanych 51 dni, ale tylko w komórkach Leydiga, przy prawidłowej reakcji w komórkach nabłonka plemnikotwórczego. Dopiero po najdłuższym okresie alkoholizowania wyraźne osłabienie odczynu Bracheta obserwowano zarówno w komórkach Leydiga, jak i nabłonka plemnikotwórczego. Po 51 dniach alkoholizowania nastąpiło wyraźne osłabienie reakcji PAS, ale tylko w obrębie akrosomów spermatyd przy względnie prawidłowej reakcji w innych komórkach i tkance granicznej. Dopiero w grupie zwierząt alkoholizowanych najdłużej spostrzega się jej wyraźne osłabienie zarówno w komórkach Leydiga, tkance granicznej, jak i w komórkach nabłonka plemnikotwórczego.

Gledhill (9) uważa, że określenie zawartości kwasu dezoksyrybonukleinowego w plemnikach bądź komórkach plemnikotwórczych wyłącznie metodą Feulgena nie jest w pełni miarodajne i winno być interpretowane ostrożnie w konfrontacji z innymi badaniami. Niektórzy zaś sądzą (16), że niewielkie wahania w zawartości DNA w poszczególnych komórkach nie mogą być uważane za nieprawidłowość. Zawartość kwasu dezoksyrybonukleinowego może być prawidłowa, natomiast dezoksyryboproteiny, białka o mniejszej stabilności, głównie biorą udział w procesie dojrzałości komórek (9). Jedną z przyczyn niepłodności mężczyzn może być nieprawidłowy skład białek jądrowych (9). Powyższą sugestię potwierdził McCosker (6), który prowadząc badania w mikroskopie elektronowym wykazał niecałkowitą kondensację chromatyny jądrowej podczas spermatogenezy sugerując, że powyższe zmiany można uważać za przyczynę mniejszej wartości komórek rozrodczych. Zmieniony kształt

jądra plemnika zwykle łączy się z nieprawidłową zawartością w nim kwasu dezoksyrybonukleinowego (28). W badaniach własnych ultrastruktury plemników przewlekłych alkoholików, jak i długotrwale alkoholizowanych zwierząt obserwuje się zmianę kształtu jądra oraz zmienioną w nim kondensację chromatyny jądrowej. Prawdopodobnie jest to następstwem zaburzenia metabolizmu białek jądrowych w okresie spermiogenezy. W połączeniu z oceną histologiczną gonady oraz osłabieniem odczynów histochemicznych na obecność kwasów nukleinowych w komórkach plemnikotwórczych alkoholizowanych zwierząt można sądzić, że w przebiegu intoksykacji dochodzi do daleko posuniętych zmian degeneracyjnych w tych komórkach, zaburzenia wielu przemian, a między innymi białkowej i węglowodanowej.

W warunkach prawidłowych mukopolisacharydy znajdują się zarówno w komórkach nabłonka plemnikotwórczego, tkance granicznej, jak i komórkach Leydiga (2, 10, 19). Clermont i Leblond (14) opracowali podział stadiów cyklu nabłonka plemnikotwórczego szczura w oparciu o oznaczanie rozmieszczenia w jego komórkach mukopolisacharydów. Z powyższego wynika jednoznacznie, że wielocukry i mukopolisacharydy są substancjami niezbędnymi do prawidłowego przebiegu spermatogenezy, a nieprawidłowa ich zawartość wskazuje pośrednio na zaburzenie funkcji spermatogenetycznej gonady. Wyniki obecnych badań własnych w tym zakresie okazały się zgodne z wcześniejszymi wynikami badań własnych nad obrazem morfologicznym nasienia zwierząt przewlekłe alkoholizowanych (24), jak i mężczyzn — przewlekłych alkoholików (21, 22).

Względna stabilność kwasów nukleinowych oraz mukopolisacharydów w nabłonku plemnikotwórczym gonady na toksyczne działanie wielu substancji, również i alkoholu etylowego można w pewnej mierze tłumaczyć ochronną rolą tkanki granicznej kanalików nasiennych (3, 4, 13, 20). Znajdują się w niej liczne substancje i enzymy powodujące transport produktów niezbędnych do prawidłowego przebiegu spermatogenezy i spermiogenezy. Przypuszczalnie ma ona także zdolność selektywnego zatrzymywania substancji szkodliwych.

PIŚMIENNICTWO

1. Bagiński S.: Technika mikroskopowa. PWN, Warszawa 1969.
2. Baillie A. H.: Quart. J. Microscop. Sci. **103**, 385—389, 1962.
3. Cavazos L. P., Melampy R. M.: Am. J. Anat. **95**, 467—470, 1954.
4. Clermont Y.: Exp. Cells Res. **15/2**, 438—440, 1958.
5. Clermont Y., Harvey S. C.: Endocrinology **76**, 80—87, 1965.
6. Coscer M.: J. Reprod. Fertil. **18**, 363—365, 1969.
7. Doepfmer R., Hinkers H. J.: Zeit. für Haut und Geschl. **5**, 94—107, 1965.
8. Farrel J. T.: J. Urol. **40**, 62—69, 1938.

9. Gledhill B. L.: "The Testis", vol. II. Biochemistry. Ed. by Johnson A. D. and all., Academic Press, N. Y., London 1970, 307.
10. Kondstaad J., Fresdorf E. L., Kremer J., Mudda J. M., Hardonk M. J.: *Acta Endocr.* 55, 427—439, 1967.
11. Królikowska - Prasał I.: *Pol. Tyg. Lek.* 28—29, 1078—1081, 1964.
12. Künkele F.: *Zeit. für die Gesamte Gerichtl. Med.* 31, 253—256, 1939.
13. Lacy D.: *Brit. Med. Bull.* 18, 205—208, 1962.
14. Leblond C. P., Clermont Y.: *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 55, 548—570, 1952.
15. Lehmann V., Brandau H.: *Acta Histochem.* 35/1, 18—23, 1970.
16. Leidl W., Stolla R.: *J. Reprod. Fertil.* 18, 173—178, 1969.
17. Leuchtenberger C., Schrader F., Weir D. R., Gentile D. P.: *Chromosoma* 6, 61—67, 1953.
18. Leuchtenberger C., Weir D. R., Schrader F., Leuchtenberger R.: *Acta Genet.* 6/2, 272—278, 1956/57.
19. Livni N., Yaffe H.: *Histochemistry* 40, 329—341, 1974.
20. Miętkowski K., Warchol J. B., Trojanowicz R.: *Acta Histochem.* 31, 188—201, 1968.
21. Semczuk M.: *Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Lublin, Sectio D* 18, 187—195, 1972.
22. Semczuk M.: *Pol. Tyg. Lek.* 42, 1631—1634, 1972.
23. Semczuk M.: *Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Lublin, Sectio D* 16, 113—118, 1973.
24. Semczuk M.: *Gin. Pol.* 1977 (w druku).
25. Smolik R., Żukowski W.: *Pol. Arch. Med. Wewn.* 4, 577—581, 1961.
26. Tynecki J., Boczkowski Z., Żrubek H., Doraczyński H., Choma M., Robak K.: *Pol. Tyg. Lek.* 20, 716—718, 1965.
27. Welch R. M., Resch K.: *Texas Univ. Public.* 6014, 31—38, 1960.
28. Zibrin M., Tomajkova E.: *Z. mikrosk. anat. Forsch.* 88, 511—522, 1974.

Otrzymano 11 VIII 1978.

OBJAŚNIENIA RYCIN

Ryc. 1. Jądro szczura kontrolnego. Barwienie kwasu rybonukleinowego metodą Bracheta. Pow. ok. 360×.

Ryc. 2. Jądro szczura kontrolnego. Barwienie metodą Feulgena-Rosenbecka dla wykazania kwasu dezoksyrybonukleinowego. Pow. ok. 360×.

Ryc. 3. Jądro szczura kontrolnego. Barwienie metodą PAS dla uwidocznienia wielocukrów. Pow. ok. 360×.

Ryc. 4. Jądro szczura z grupy II doświadczalnej. Barwienie metodą Bracheta. Osłabienie reakcji w komórkach Leydiga. Pow. ok. 360×.

Ryc. 5. Jądro szczura z grupy II doświadczalnej. Barwienie metodą PAS. Osłabienie reakcji PAS w obrębie komórek nabłonka plemnikotwórczego w porównaniu z grupą kontrolną. Pow. ok. 360×.

Ryc. 6. Jądro szczura z grupy III doświadczalnej. Barwienie metodą PAS. Dalsze osłabienie reakcji PAS w porównaniu do grupy poprzedniej. Pow. ok. 360×.

Ryc. 7. Jądro szczura z grupy IV doświadczalnej. Barwienie na obecność kwasu rybonukleinowego metodą Bracheta. Osłabienie reakcji w komórkach nabłonka plemnikotwórczego i w komórkach Leydiga. Pow. ok. 360×.

Рис. 8. Ядро щура из группы IV дощадчалней. Барwienie на obecность kwasu dezoksyrybonukleinowego metodą Feulgena-Rosenbecka. Osłabienie reakcji w porównaniu z grupami opisywanymi poprzednio. Pow. ok. 360X.

Рис. 9. Ядро щура из группы IV дощадчалней. Барwienie metodą PAS. Wi-doczne ściєńczenie tkanki granicznej i osłabienie reakcji na obecность wielocukrów. Pozytywną reakcję obserwuje się tylko w główkach plemników. Pow. ok. 360X.

РЕЗЮМЕ

Исследование проведено на 64 крысах, самцах штамма Вистар, в возрасте от 3—4 месяцев и при начальном весе 150—200 г. Опытные животные разделены на 4 группы и для каждой из них установлено отдельную контрольную группу. Длительность эксперимента в соответствующих группах достигала 13, 51, 102 и 204 дня. Животные экспериментальных групп получали ежедневно натошак 40% этиловый алкоголь в количестве 3 г/кг веса тела.

Для определения рибонуклеиновой кислоты срезы яичек были окрашены методом Брахета. Для установления наличия и размещения дизоксорибонуклеиновой кислоты использовано метод Фульгена—Розенбека. Наличие полисахаридов устанавливалось методом ПАС.

В яичках крыс, которые получали этиловый алкоголь в течение 51 дня, обнаружено незначительное ослабление реакции ПАС и реакции Брахета в клетках Лейдига. По мере удлинения времени получения алкоголя, обнаружено нарастание изменений в гистохимической картине яичек, а самые большие изменения были видны в группе крыс, которые получали алкоголь в самый длительный период. У них кроме нормальной реакции Фульгена в клетках Лейдига обнаружено значительное ослабление всех проведенных гистохимических реакций по сравнению как с контрольной группой, так и с группами экспериментальных крыс, которым алкоголь подавался в более короткие периоды времени.

SUMMARY

The investigations were carried out on 64 male rats of the Wistar strain, 3—4 months old at an initial weight of 150—200 g. The investigated rats were divided into 4 experimental groups and a separate control group was formed for each of them. The experiment in particular groups lasted for 13, 51, 102 and 204 days respectively. Animals from the experimental groups were given 40% ethyl alcohol on an empty stomach in a dose of 3 g/kg body weight.

In order to show ribonucleic acid (RNA) fragments of the were stained by Brachet's method. To show the presence and distribution of deoxyribonucleic acid (DNA) the method of Feulgen-Rosenbeck was applied. The PAS method was used to expose polysaccharides.

In the testicles of rats receiving ethyl alcohol for 51 days a slight weakening in the PAS reaction and Brachet's reaction in Leydig's cells was observed. Along side the prolongation of alcohol administration an intensification in the changes in the histological picture of the gonad were observed, and the most advanced changes were seen in the group in which alcohol was administered the longest. Here apart from the normal Feulgen reaction in Leydig's cells a considerable weakening in all the investigated histochemical reactions was observed in comparison to the control group as well as with those groups given alcohol for a shorter time.

EXPLANATION TO FIGURES

Fig. 1. Testicles of a control rat. RNA stained after the method of Brachet. Magn. ca 360X.

Fig. 2. Testicles of a control rat. Staining for the presence of DNA after Feulgen-Rosenbeck. Magn. ca 360X.

Fig. 3. Testicles of a control rat. Stained with PAS for the presence of polysaccharides. Magn. ca 360X.

Fig. 4. Testicle of a rat in II experimental group. RNA stained after the method of Brachet. The decreased reaction in Leydig's cells is shown. Magn. ca 360X.

Fig. 5. Testicle of a rat from the II experimental group. Stained with PAS. The colour reaction of PAS in cells of spermatogenic epithelium is weaker in comparison to the control group. Magn. ca 360X.

Fig. 6. Testicles of a rat from the III experimental group. Staining with PAS. Further decreased of PAS reaction in comparison to the previously described groups. Magn. ca 360X.

Fig. 7. Testicles of a rat from the IV experimental group. Staining for the presence of RNA after the method of Brachet. The decreased colour reaction not only is shown in cells of the spermatogenic epithelium but in Leydig's cells as well. Magn. ca 360X.

Fig. 8. The testicle of the rat from the IV experimental group. DNA stained after the method of Feulgen-Rosenbeck. The decreased reaction is shown in comparison to the previously described groups. Magn. ca 360X.

Fig. 9. Testicles of a rat from the IV experimental group. Stained with PAS. The colour reaction for polysaccharides is weaker in the boundary tissue. The positive reaction is only shown in the head of the spermatozoa. Magn. ca 360X.

