

Zakład Histologii i Embriologii. Instytut Biologiczno-Morfologiczny. Wydział Lekarski,
Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: prof. dr med. Stanisław Grzycki

Irena KRÓLIKOWSKA-PRASAŁ

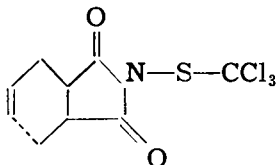
Wpływ kaptanu na metabolizm komórek wątrobowych w świetle badań cytochemicznych

Влияние каптана на метаболизм клеток печени в цитохимических исследованиях

The Influence of Captan on the Metabolism of Liver Cells in Cytochemical Studies

Duże zainteresowanie pestycydami związane jest z powszechnym stosowaniem ich w ochronie roślin (1, 7, 18, 27). Z drugiej strony pestycydy są związkami toksycznymi i mogą ujemnie wpływać na organizm człowieka i zwierząt stałocieplnych przez spożywanie przez nie produktów żywnościowych pochodzenia roślinnego (9, 12, 21, 25, 30). Większe nagromadzenie pestycydów w organizmie może prowadzić do uszkodzenia metabolizmu narządów i tkanek (15, 29, 31).

Jednym z pestycydów należących do grupy fungicydów jest kaptan (N-trójchlorometylio-4-cykloheksano-1,2-dwukarboksymid) (2, 7, 11).



Jest on stosowany bardzo często w sadownictwie i warzywnictwie jako środek grzybobójczy. Mimo że kaptan uważany jest za preparat mało toksyczny (IV klasa toksyczności) (7, 26), to jednak celowe wydaje się prześledzenie jego wpływu na metabolizm komórek wątrobowych. W dostępnym piśmiennictwie nie spotkałam badań dotyczących wpływu kaptanu na odczyny cytochemiczne hepatocytów zwierząt, którym podawano ten preparat. Odczyny cytochemiczne — jak wiadomo — są czułymi wskaźnikami w działaniu nawet mało szkodliwych związków i w tym przypadku mogą oddać cenne usługi.

MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Materiał badań stanowiły świnki morskie, obojga płci, ciężaru około 300 g w liczbie 19 sztuk, które w czasie doświadczenia przebywały w jednakowych wa-

runkach i żywione były standardową dietą (pasza granulowana, marchew, woda) w ściśle określonym czasie. Świnki morskie podzielono na 4 grupy doświadczalne i grupę kontrolną. Zwierzętom grup doświadczalnych (I, II, III i IV) podawano codziennie przy pomocy sondy zawiesinę wodną kaptanu (kaptan zawiesinowy 50 — Zakłady Chemiczne „Azot” w Jaworznie Nr rej. Min. Rol. T-kr 37-7//68). Zwierzęta grupy I i II otrzymywały kaptan przez okres 7 dni w ilościach: w I grupie — po 100 mg/kg/dzień kaptanu zawiesinowego 50 (podczas przygotowywania roztworu brano pod uwagę stężenie preparatu, a nie substancji czynnej), w II grupie — po 1000 mg/kg/dzień. Zwierzętom grupy III i IV podawano kaptan przez 21 dni: w III grupie w ilości 100 mg/kg/dzień, w IV — 1000 mg/kg/dzień zawiesiny. Zwierzęta grupy IV padły już po 10-dniowym podawaniu preparatu (2 szt.) i po 12-dniowym (2 szt.), w związku z tym grupa IV nie została uwzględniona w badaniach.

Po 21 godzinach od ostatniego podania kaptanu zwierzęta dekapitowano i pobierano wycinki z prawego płata wątroby. Część z nich utrwalano w płynie Carnoya i na skrawkach parafinowych wykonywano odczyny histochemiczne na kwasy nukleinowe wg metody Bracheta, na DNA wg metody Feulgena oraz reakcję PAS wg McManusa na glikogen, stosując reakcje kontrolne z dimedonem oraz trawienie diastazą w temp. 37°C przez 1 godz. Na preparatach tych wykonywano również barwienie histologiczne hematoksyliną i eoźną.

Inne wycinki utrwalano przez 24 godziny w płynie Bakera i następnie cięto na mikrotomie mroźniowym, wykonując reakcje enzymatyczne na aktywność fosfataz kwaśnej i zasadowej przy stosowaniu metody dwuazowej wg Burstona oraz pirofosfatazy tiaminowej (TPPazę) wg Novikoffa i Goldfishera (23). Pozostałe nieutrwalone skrawki cięto na kriostacie Pearse i oznaczano w nich aktywność dehydrogenaz i reduktaz NADH i NADPH. Dehydrogenazę bursztynianową oznaczano wg Nachlas i wsp. (22), natomiast dehydrogenazy mleczanową, izocytrynianową i glikozo-6-fosforanową oraz obie reduktazy tetrazolowe NADH i NADPH oznaczano wg Pearse (24). Obok każdego odczynu enzymatycznego przeprowadzano reakcje kontrolne stosując inkubację bezsubstratową oraz w podwyższonej temperaturze.

WYNIKI BADAŃ

Preparaty przeglądowe barwione hematoksyliną i eoźną nie wykazywały zasadniczych różnic morfologicznych między tkanką wątrobową zwierząt kontrolnych i trzech badanych grup doświadczalnych.

Kwas dezoksyrybonukleinowy

Dodatni odczyn na DNA w jądrach komórek wątrobowych zwierząt kontrolnych skupiony był przede wszystkim w pobliżu błony jądrowej oraz w okolicy przyjąderkowej (ryc. 1a). U zwierząt grupy I nie wykazano różnic w intensywności odczynów i ich rozmieszczeniu w porównaniu z grupą kontrolną. Natomiast w grupie II i III dało się zauważyć znacznie większe nagromadzenie chromatyny w pobliżu błony jądrowej niż w dwu grupach poprzednich (ryc. 1b).

Kwas rybonukleinowy

W hepatocytach zwierząt kontrolnych odczyn na RNA rozmieszczony

był równomiernie w całej cytoplazmie. W niektórych komórkach dało się zauważyć większe skupienia substancji pyroninochłonnej w pobliżu jądra komórkowego. Widoczne były również jąderka z intensywnym odczynem na RNA. W I grupie doświadczalnej odczynu na RNA — podobne do uzyskanych w grupie kontrolnej. Natomiast w II grupie doświadczalnej występował wzrost odczynu na RNA w cytoplazmie komórkowej, podczas gdy w III grupie doświadczalnej, w której zwierzęta przyjmowały kaptan przez 21 dni, pyroninochłonność cytoplazmy nie różniła się od wątroby zwierząt kontrolnych.

Glikogen

Silna reakcja PAS dodatnia w grupie zwierząt kontrolnych występowała w hepatocytach leżących w pobliżu żyły środkowej, natomiast komórki położone na obwodzie zrazika dawały słabsze odczyny. Reakcja kontrolna z dimedonem i trawienie diastazą wskazują na lokalizację glikogenu w tych komórkach.

U zwierząt doświadczalnych, którym przez 7 dni podawano kaptan (I i II grupa) zmniejszał się odczyn w komórkach leżących w strefie żyły środkowej natomiast obserwowano jego wzrost w hepatocytach obwodowej strefy zrazika. Podobne obrazy uzyskano również u zwierząt, które otrzymywały kaptan przez 21 dni.

Fosfataza kwaśna

Odczyny na aktywność fosfatazy kwaśnej widoczne w lizosomach występowały w hepatocytach zwierząt kontrolnych przede wszystkim w pobliżu kanalików żółciowych. Natomiast po podaniu zwierzętom kaptanu ilość ich uległa zwiększeniu, ale nie tylko w sąsiedztwie kanalików żółciowych, lecz w całej cytoplazmie komórek wątrobowych. Niektóre lizosomy osiągały znaczne rozmiary. Takie obrazy szczególnie występowały w wątrobie zwierząt, które pobierały kaptan w dużych dawkach (II grupa dośw.). Intensywny odczyn na fosfatazę kwaśną obserwowano również w komórkach Browicza-Kupffera.

Fosfataza zasadowa

Reakcja na fosfatazę zasadową w wątrobie zwierząt kontrolnych widoczna była w błonach komórkowych oraz ścianach naczyń krwionośnych i ścianach przewodów żółciowych. Wzrost aktywności obserwowano w wątrobie zwierząt doświadczalnych grupy II, zwłaszcza w błonach komórkowych i śródbłonku naczyniowym. Wystąpiły także dyfuzyjne odczyny, które były bardzo wyraźne w hepatocytach III grupy. Błony komórkowe wykazywały nadal silną reakcję.

Pirofosfataza tiaminowa

Nie wykazano zasadniczych różnic w aktywności TPPazy zarówno w hepatocytach zwierząt kontrolnych, jak i doświadczalnych. W obu przypadkach widoczne były jednakowe odczyny w kanalikach żółciowych tworzących wyraźną siatkę w obrębie zrazika wątrobowego.

Dehydrogenaza bursztynianowa

Aktywność dehydrogenazy bursztynianowej — wyznacznika mitochondriów obserwowano w hepatocytach obwodowej strefy zrazika, natomiast znacznie słabszą w komórkach strefy centralnej. Produkt reakcji enzymatycznej występował w postaci niebieskich ziaren dwuformazanu w cytoplazmie komórek wątrobowych.

W wątrobie zwierząt, którym podawano kaptan w dużych dawkach lub przez dłuższy okres czasu (grupa II i III) aktywność enzymu była intensywna tylko w pojedynczych hepatocytach leżących w bezpośrednim sąsiedztwie żyły środkowej, w pozostałych komórkach odczyny były znacznie słabsze w porównaniu z obserwowanymi u zwierząt kontrolnych (ryc. 2).

Dehydrogenaza mleczanowa

W wątrobie zwierząt kontrolnych produkt reakcji enzymatycznej na aktywność dehydrogenazy mleczanowej występował w cytoplazmie hepatocytów w postaci niebieskich ziaren dwuformazanu. Odczyny wykazywały różne nasilenie w poszczególnych komórkach. W jednych było dużo ziaren w innych mniej i drobniejsze. W grupie doświadczalnej I nie zauważono różnic w odczynach w porównaniu z kontrolą, natomiast w II i III wykazano obniżenie aktywności dehydrogenazy mleczanowej w hepatocytach, z tym że zmiany były bardziej widoczne w II grupie doświadczalnej, czyli po podaniu dużych dawek kaptanu (ryc. 3). Natomiast w III grupie doświadczalnej reakcja enzymatyczna była również słaba, ale o jednakowym stopniu nasilenia w środkowej i obwodowej strefie zrazika wątrobowego.

Dehydrogenaza izocytrynianowa

Produkt reakcji enzymatycznej na aktywność dehydrogenazy izocytrynianowej w wątrobie zwierząt kontrolnych był widoczny w postaci niebieskich ziaren w cytoplazmie komórek wątrobowych. Spotykano komórki z różną ilością produktu reakcji, jedne wykazywały większe skupienia ziaren inne posiadały ich znacznie mniej. Po podaniu zwierzętom kaptanu w grupie I nie zauważono zmian w reakcji na aktywność dehydrogenazy izocytrynianowej w hepatocytach w porównaniu z grupą kontrolną. Dopiero przy większych stężeniach kaptanu (grupa II) lub przy dłuższym

jego podawaniu (grupa III) następuje niewielkie osłabienie odczynu w komórkach wątrobowych zarówno w centralnej, jak i obwodowej strefie zrazika (ryc. 4).

Dehydrogenaza glikozo-6-fosforanowa

Porównując preparaty z wątroby zwierząt kontrolnych i doświadczalnych zauważono wzrost produktu reakcji enzymatycznej na aktywność dehydrogenazy glikozo-6-fosforanowej w komórkach zwierząt otrzymujących kaptan. Zwłaszcza silne reakcje wystąpiły w wątrobie zwierząt grupy II, które przez 7 dni pobierały duże dawki kaptanu (ryc. 5). Wzrost ten był mniej zaznaczony w pozostałych grupach doświadczalnych — III, a zwłaszcza I, w których zwierzęta otrzymywały mniejsze dawki kaptanu.

Reduktaza tetrazolowa NADH

Odczyn na reduktazę tetrazolową NADH na preparatach wątrobowych zwierząt kontrolnych zlokalizowany był przeważnie w obwodowej strefie zrazika. Komórki strefy środkowej dawały również reakcję enzymatyczną, lecz słabszą niż hepatocyty leżące w pobliżu żyły środkowej. Podawanie kaptanu przez 7 dni w mniejszych stężeniach (I grupa dośw.) nie wskazywało na zmiany aktywności reduktazy tetrazolowej NADH zarówno w komórkach strefy środkowej, jak i obwodowej. Dłuższe podawanie kaptanu wpływało w niewielkim stopniu na wzrost reakcji w hepatocytach całego zrazika (ryc. 6).

Reduktaza tetrazolowa NADPH

Na preparatach kontrolnych produkt reakcji enzymatycznej na reduktazę tetrazolową NADPH był zlokalizowany przede wszystkim w hepatocytach obwodowej strefy zrazika. W I grupie doświadczalnej nie zauważono istotnych różnic w rozmieszczeniu produktu reakcji enzymatycznej w porównaniu z kontrolą. Natomiast w grupie II przy dużych dawkach kaptanu wystąpił wzrost reakcji zwłaszcza w komórkach strefy środkowej, które na preparatach kontrolnych wykazywały silniejszą reakcję. Podobny odczyn uzyskano w wątrobie zwierząt, którym podawano mniejsze dawki kaptanu w dłuższym czasie (III grupa dośw.) (ryc. 7).

OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ

Ostatnio spotyka się coraz częściej publikacje na temat wpływu niektórych pestycydów na procesy biochemiczne w tkankach (14, 29). Często związki te działają jako trucizny mitotyczne komórki (2). Sposób działania fungicydów na komórki zależy od charakteru chemicznego użytego

związku grzybobójczego, jego toksyczności oraz zdolności przenikania przez błony cytoplazmatyczne badanych tkanek. Odmienny będzie ich metabolizm w tkance wątrobowej inny w nerce, śledzionie czy tarczycy (2, 19, 20, 29).

Użyty w naszym doświadczeniu kaptan, posiada grupę funkcjonalną —S—CCl₃, której przypisuje się właściwości grzybobójcze (10, 11, 16, 17). Działanie jego polega prawdopodobnie na wiązaniu z grupami cysteiny i glutationu w białkach (20). Zmiany wewnątrzkomórkowe spowodowane przez fungicydy polegają na zakłóceniu metabolizmu komórkowego najczęściej poprzez inaktywację lub hamowanie aktywności enzymatycznej (28). Dlatego badania cytochemiczne, cytoenzymatyczne mogą być czulsze do wykazania zaburzeń w przemianach wewnątrzkomórkowych niż metody czysto morfologiczne.

W naszych doświadczeniach badając wpływ kaptanu na odczyny histochemiczne kwasów nukleinowych zauważono, że RNA nie ulega wyraźnym zmianom w komórkach zwierząt doświadczalnych, jedynie w II grupie, w której zwierzęta otrzymały duże dawki (1000 mg/kg/dzień) odczyn uległ wzrostowi. W przypadku DNA obserwowano wzrost substancji Feulgen dodatniej w pobliżu błony jądrowej, przy długotrwałym podawaniu preparatu (III grupa dośw.).

Odczyny na glikogen wskazują na przesunięcia reakcji z komórek strefy centralnej do obwodowej, co może świadczyć o zaburzonej gospodarce węglowodanowej spowodowanej podawaniem kaptanu. Z enzymów hydrolitycznych TPPaza nie wykazywała różnic w odczynach histochemicznych w wątrobie zwierząt kontrolnych i doświadczalnych. Natomiast aktywność fosfatazy zasadowej wzrastała w błonach komórkowych oraz obserwowano dyfuzyjne odczyny w cytoplazmie hepatocytów. Takie obrazy uzyskiwano w wątrobie zwierząt, które otrzyły duże dawki kaptanu lub podczas długotrwałego podawania preparatu (II i III grupa dośw.). Również w tych grupach zwiększała się liczba lizosomów w pobliżu kanalików żółciowych, co wskazuje na wstępne zmiany degeneracyjne w hepatocytach.

Najbardziej czułymi wskaźnikami na działanie kaptanu okazały się reakcje cytoenzymatyczne dotyczące enzymów oddechowych związanych z cyklem Krebsa oraz procesem glikolitycznym. Jak wynika z doświadczeń przy małych dawkach (100 mg/kg/dzień) i krótkotrwałym działaniu kaptanu (7 dni) we wszystkich badanych dehydrogenazach nie udało się zauważyć istotnych różnic w porównaniu z odczynami uzyskanymi w tkance wątrobowej zwierząt kontrolnych. Zmiany wystąpiły dopiero przy tych samych dawkach, gdy preparat był podawany przez dłuższy okres czasu (21 dni). Obserwowano wówczas obniżenie aktywności dehydrogenazy bursztynianowej, izocytrynianowej i mleczanowej. Pozostałe enzy-

my, jak np. dehydrogenaza glikozo-6-fosforanowa, wykazały wzrost aktywności. Intensywniejszą reakcję enzymatyczną dawały także reduktazy NADH i NADPH, zwłaszcza w komórkach środkowej strefy zrazika wątrobowego. Podobne zmiany uzyskano przy dużych dawkach kaptanu (100 mg/kg/dzień) podawanych w krótkim czasie (7 dni).

Wyniki naszych badań są zgodne z badaniami biochemicznymi przeprowadzonymi na mitochondriach przez S y r o w a t k ę (28), wskazującymi, że kaptan wpływa na uszkodzenie procesu transportu elektronów wzdłuż łańcucha oddechowego i zakłóceniu regulacji oddychania, jak również wcześniejszymi badaniami H o c h s t e r n a (8), który podaje, że kaptan hamuje działanie niektórych enzymów biorących udział w metabolizmie fosforu i kwasu pirogronowego.

Doświadczenia nasze wskazują, że stopień zmian aktywności enzymów uzależniony był z jednej strony od wielkości dawki, z drugiej od czasu jej podawania. Przy małych dawkach (100 mg/kg/dzień) podawanych w krótkim czasie (7 dni) odczyny nie różniły się od kontrolnych. Nie wykazano w tym okresie wpływu kaptanu nie tylko na enzymy hydrolityczne, ale również na enzymy oddechowe. Natomiast duże dawki kaptanu (1000 mg/kg/dzień) podawane w tym samym czasie, tj. 7 dni, powodowały zmiany w aktywności enzymatycznej zwłaszcza enzymów oddechowych w porównaniu z grupą poprzednią. Zwrócono uwagę, że długotrwałe podawanie kaptanu (21 dni) w małych dawkach (100 mg/kg/dzień) dawały obrazy podobne jak w II grupie doświadczalnej.

B o y d i C a r s k y (6) wykazali, że kliniczne oznaki toksyczności kaptanu były najbardziej widoczne w ciągu 3 tygodni jego podawania przy DL_{50} (100 dni) równej $0,916 \pm 0,233$ g/kg/dzień. W tym czasie wystąpił największy spadek ciężaru ciała oraz śmiertelność zwierząt. Oznaki zatrucia i związane z nimi zmiany patologiczne w różnych narządach stopniowo zanikają, gdy zwierzęta przeżyły ten okres. Natomiast S y r o w a t k a (28) wskazuje, że kaptan w małych stężeniach (100 μ M w końcowym stężeniu roztworu) nie wykazuje żadnego wpływu na kontrolę oddychania mitochondriów i przepuszczalność błon, natomiast przy większym stężeniu (500 μ M) hamuje fosforylację tlenową i powoduje głębokie zmiany w przepuszczalności błon mitochondrialnych.

Należy również podkreślić, że zarówno dawki, jak i czas podawania kaptanu zależne są od gatunku zwierząt. W naszym doświadczeniu dawki, które były nietoksyczne dla szczurów i dawały im możliwość przeżycia, stawały się toksyczne dla świnek morskich. W IV grupie wszystkie zwierzęta padły już po 10—12 dniach podawania kaptanu w dawce 1000 mg/kg/dzień. Znacznie większą wrażliwość świnek morskich na inne pestycydy opisuje również S y r o w a t k a (28).

Zauważono także, że bardzo ważne znaczenie posiada dieta, którą otrzymują zwierzęta podczas doświadczenia. Okazało się, że zmiany metaboliczne w różnych organach są większe, gdy dieta jest uboga w białko (3, 4, 5, 13). Kuzminska ja (14) badając takie pestycydy jak DDT i sewin wykazuje ich wpływ na procesy tlenowej fosforylacji oraz procesy glikolityczne zarówno przy długotrwałym (5 miesięcy), jak i krótkotrwałym (2 dni) podawaniu preparatów, przy czym działanie sewinu jest znacznie słabsze niż DDT. Natomiast Syrowatka (28) badając homogenaty wątrobowe zwierząt, które otrzymywały kaptan w dawce letalnej LD_{50} i zabijane były po 2 godz., nie zauważa uchwytłych zmian w rozkojarzeniu tlenowej fosforylacji.

Na podstawie przeprowadzonych badań cytochemicznych nad wpływem kaptanu na metabolizm komórek wątrobowych oraz danych z piśmiennictwa można wyciągnąć następujące wnioski:

1) Kaptan nie wykazuje istotnych różnic w metabolizmie hepatocytów, jeżeli podawany jest w małych dawkach (100 mg/kg/dzień) i przez krótki okres czasu (7 dni).

2) Długotrwałe podawanie kaptanu (21 dni) przy tych samych dawkach (100 mg/kg/dzień) powoduje spadek aktywności enzymów oddechowych takich, jak dehydrogenazy bursztynianowa, izocytrynianowa i mleczanowa, wzrost aktywności reduktaz NADH i NADPH oraz dehydrogenazy glikozo-6-fosforanowej.

3) Duże dawki kaptanu (1000 mg/kg/dzień) podawane w krótkim czasie (7 dni) powodują także zmiany w aktywności enzymów oddechowych.

4) Zarówno długotrwałe podawanie kaptanu w małych dawkach, jak i krótkotrwałe w dużych dawkach powodują podobne zmiany w metabolizmie komórek wątrobowych, wpływając przede wszystkim na procesy oksydatywnej fosforylacji hepatocytów.

PIŚMIENNICTWO

1. Barnes J. M., Magee P. N., Boyland E., Haddow A., Passey R. D., Bullough W. S., Cruickshank C. N. D., Salaman M. H., Williams R. T.: *Nature* **180**, 62—64, 1957.
2. Borecki Z., Czerwińska E., Echstein Z., Kowalik R.: *Chemiczne środki grzybobójcze (Fungicydy)*. Państw. Wyd. Roln. i Leśne, Warszawa 1965.
3. Boyd E. M.: *Bull. Wld. Hlth. Org.* **40**, 801—805, 1969
4. Boyd E. M., Krijnen C. J.: *J. clin. Pharmacol.* **8**, 225—234, 1968.
5. Boyd E. M., Krijnen C. J., Tanikella T. K.: *Arch. Toxicol.*, **26**, 125—132, 1970.
6. Boyd E. M., Carsky E.: *Acta pharmacol. et toxicol.*, **29**, 226—240, 1971.
7. Davis E. F., Tuma B. L., Lee L. C.: *Analysis and Compilation: in Handbook of Toxicology*, vol. V. Fungicides. W. B. Saunders Company — Philadelphia and London 1959 p. 37—38.
8. Hochstern P. E., Cox C. E.: *Am. J. Botany* **43**, 437—443, 1956.

9. Horsfall J. G.: Mechanism of Fungitoxicity. *Advances in Pest Control Research*, **1**, 193—218, 1955.
10. Johnston R. R., Rueggenberg H. C., Bloock S. S.: *J. Agr. Food. Chem.*, **5**, 672—678, 1957.
11. Kittleson A. R.: *Science* **115**, 84—89, 1952.
12. Knowles C. O., Sami Ahmad: *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **49**, 590—597, 1971.
13. Krijnen C. J., Boyd E. M.: *Fd. Cosmet. Toxicol.*, **8**, 35—42, 1970.
14. Kuzminskaja U. A., Jakuszkow W. E.: *Gig. Sanit.* **35**, 97—99, 1970.
15. Litwinow N. N., Nikonowa A. G.: *Gig. Sanit.* **36**, 21—25, 1971.
16. Lukens R. J.: *J. Agr. Food. Chem.* **14**, 365—369, 1956.
17. Lukens R. J., Rich S.: *Phytopathology* **49**, 228—231, 1959.
18. Logothetis G., Westlake W. E.: *Residual. Rev.* **7**, 1—8, 1964.
19. Mannell W. A., Grice H. C.: *Can. J. Biochem. Physiol.* **35**, 1233—1238, 1957.
20. Menzie C. M.: *Metabolism of Pesticides. Special Scientific Report-Wildlife 127, Fish and Wildlife Service. Washington 1960.*
21. Miller E. J., Granhall J., Cook J. W.: *Residue Rev.* **7**, 114—129, 1964.
22. Nachlas M. M., Tsou K. C., De Sousa E., Cheng C. S., Seligman A. M.: *J. Histochem. Cytochem.* **5**, 420—426, 1957.
23. Novikoff A. B., Goldfischer S.: *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **47**, 802—807, 1961.
24. Pearse A. G.: *Histochemistry Theoretical and Applied*, Churchill, London 1960.
25. Rick S., Horsfall J. G.: *Phytopathology* **42**, 457—461, 1952.
26. Rusiecki W.: *Toksykologia środków ochrony roślin. PZWŁ, Warszawa 1966*, p. 130—131.
27. Schechler M. S., Hernstein I.: *Advance in Pest Control Res.*, **1**, 353—448, 1955.
28. Syrowatka T.: *Badania nad wpływem fungicydów na komórkowe procesy energetyczne. PZH, Warszawa 1970.*
29. Syrowatka T., Wiadrowska B., Jurek A., Bańkowska J., Bojanowska A.: *Roczniki PZH* **22**, 369—373, 1971.
30. Szelaąg J., Maciejewska K., Głowaczewska I., Trzciankowska A., Skrabieliński R.: *Przegl. Epid.* **25**, 303—308, 1971.
31. Trachtenberg I. M., Kagan J. S., Biełonożko G. A., Antonowicz E. A., Polczenko W. I.: *Gig. Sanit.*, **35**, 14—17, 1970.

Otrzymano 19 II 1973.

OBJAŚNIENIA DO RYCIN

Ryc. 1. Reakcja Feulgena w komórkach wątrobowych świnki morskiej: a) zwierzęta kontrolne, b) zwierzęta doświadczalne otrzymujące doustnie kaptan w dawce 100 mg/kg/dzień przez 21 dni. $\times 600$.

Ryc. 2. Wątroba zwierząt otrzymujących kaptan przez 21 dni w dawce 100 mg/kg/dzień. Reakcja na dehydrogenazę bursztynianową wg Nachlas i wsp. $\times 300$.

Ryc. 3. Wątroba zwierząt otrzymujących kaptan przez 7 dni w dawkach 1000 mg/kg/dzień. Odczyn na dehydrogenazę mleczanową wg Pearse. $\times 400$.

Ryc. 4. Wątroba zwierząt otrzymujących przez 21 dni kaptan w dawce 100 mg/kg/dzień. Reakcja na dehydrogenazę izocytrynianową wg Pearse. $\times 400$.

Ryc. 5. Wątroba zwierząt otrzymujących przez 7 dni kaptan w ilości 1000 mg/kg/dzień. Reakcja na dehydrogenazę glikozo-6-fosforanową wg Pearse. $\times 400$.

Рис. 6. Wątroba zwierząt otrzymujących przez 21 dni kaptan w ilości 100 mg/kg/dzień. Reakcja na reduktazę tetrazolową NADH wg Pearse. $\times 400$.

Рис. 7. Wątroba zwierząt otrzymujących kaptan przez 21 dni w ilości 100 mg/kg/dzień. Reakcja na reduktazę tetrazolową NADPH wg Pearse. $\times 400$.

РЕЗЮМЕ

Морским свинкам кaptан вводился *per os* в течение 7 дней в дозе 100 мг/кг в сутки (I группа) и 1000 мг/кг в сутки (II группа) и в течение 21 дня в дозе 100 мг/кг в сутки (III группа) и 1000 мг/кг в сутки (IV группа). Животные четвертой группы не исследовались, т. к. они издохли на 10—12 день после получения кaptана.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что длительное введение или большие дозы фунгицида вызывают энзиматическую активность дегидрогеназ и редуктаз NADH и NADPH.

SUMMARY

Guinea-pigs were given daily oral administration of captan for periods of 7 days in dose 100 mg/kg/day (I group), and 1000 mg/kg/day (II group) and for periods of 21 days in dose 100 mg/kg/day (III) and 1000 mg/kg/day (IV group). The fourth group did not take part in these studies, because all animals were dead within 10—12 days of captan administration.

The application of captan in the course of longitudinal action or by use of large doses of this fungicide leads to the change in enzymatic activity of dehydrogenase and NADH and NADPH reductase.

EXPLANATION OF FIGURES

Fig. 1. Feulgen reaction of the guinea-pig liver cells a) control animals, b) experimental animals — oral administration of captan given in dose 100 mg/kg/day for 21 days. $\times 600$.

Fig. 2. The guinea-pig liver after oral administration of captan given in dose 100 mg/kg/day for 21 days. Succinate dehydrogenase activity. Nachlas et al. method. $\times 300$.

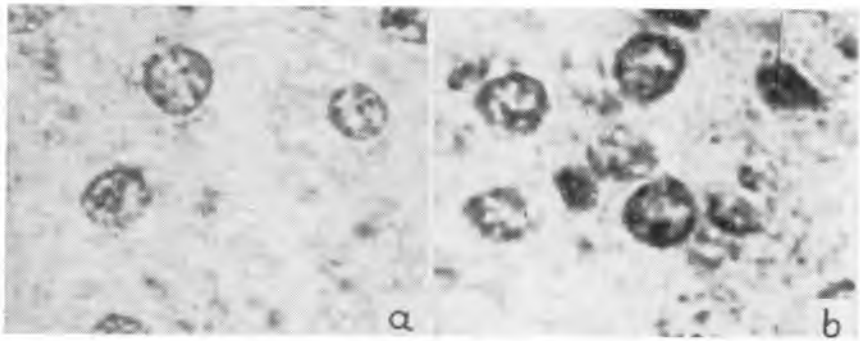
Fig. 3. The guinea-pig liver after oral administration of captan in dose 1000 mg/kg/day for 7 days. Lactate dehydrogenase activity. Pearse method. $\times 400$.

Fig. 4. The guinea-pig liver after oral administration 100 mg/kg/day for 21 days. Iso-cytrate dehydrogenase activity. Pearse method. $\times 400$.

Fig. 5. The guinea-pig liver after oral administration of captan in dose 100 mg/kg/day for 7 days. Glucose-6-phosphate dehydrogenase activity. Pearse method. $\times 400$.

Fig. 6. The guinea-pig liver after oral administration of captan in dose 100 mg/kg/day for 21 days. NADH — reductase activity. Pearse method. $\times 400$.

Fig. 7. The guinea-pig liver after oral administration of captan in dose 100 mg/kg/day for 21 days. NADPH-reductase activity. Pearse method. $\times 400$.



Ryc. 1

