

szczurzyce jednomiesięczne, które otrzymywały testosteron w dawce 1,0 mg/kg/dobę. Grupa VI składała się z jednomiesięcznych szczurzy, które obciążono testosteronem w dawce 0,5 mg/kg/dobę.

Po zakończeniu doświadczenia zwierzęta zabijano przez dekapitację i pobierano jajniki. Jeden z jajników utrwalano w płynie Backera celem oznaczenia fosfataz zasadowej i kwaśnej, drugi w formalinie do badań struktury morfologicznej. Następnie jajniki krojono w skrawki grubości koło 15 μm na półprzewodnikowym stoliku zamrażającym. Przygotowane preparaty jajników barwiono hematoksyliną i eozyną w sposób typowy. W każdym jajniku (w preparacie obejmującym cały jajnik) liczono pęcherzyki wzrastające, pęcherzyki Graafa, ciała żółte i torbiełki. Wykonano odczyn na fosfatazę zasadową wg Gomoriego (8) stosując jako substrat beta-glicerofosforan sodu (BHD-Anglia) w buforze weronalowym o pH 9,4. Czas inkubacji w temp. 37°C wynosił 60 minut. Odczyn na fosfatazę kwaśną wykonano wg Gomoriego (8) używając jako substratu beta-glicerofosforanu sodu (BHD-Anglia) w buforze octanowym o pH 5,4. Czas inkubacji w temp. 37°C wynosił 35 minut. Zdjęcia wykonano mikroskopem Carl Zeiss (Jena), stosując obiektywy planachromatyczne oraz okulary typu MF projektiv-K, używając filmu negatywowego Orwo NP-15. Istotność różnic między grupami obliczono przy pomocy testu Studenta.

WYNIKI BADAŃ

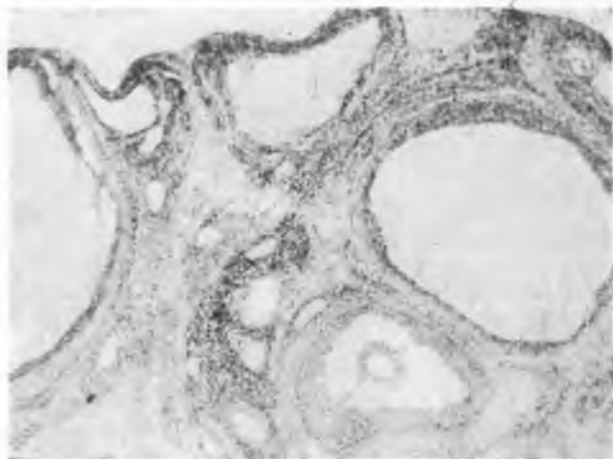
I. Badania histologiczne

Grupa I kontrolna — jajniki tej grupy zwierząt posiadały pęcherzyki pierwotne. W 10 jajnikach wykryto 29 pęcherzyków wzrastających, 16 pęcherzyków Graafa, 13 ciałek żółtych.

Grupa II — tylko w 2 jajnikach stwierdzono 2 ciała żółte, pozostałe 8 jajników ciałek żółtych nie posiadały. Pęcherzyki Graafa występowały bardzo rzadko, głównie w stadiach wczesnego rozwoju. W 4 jajnikach wykryto 5 pęcherzyków Graafa. W tych jajnikach wykryto pęcherzyki pierwotne oraz wyspce znamienne zwiększenie liczby ($p < 0,001$) pęcherzyków wzrastających. We wszystkich jajnikach pojawiały się mniejsze lub większe torbiełki folikularne, otoczone warstwą komórek ziarnistych. W jajnikach tej grupy zwierząt wykryto 49 torbielek (ryc. 1).

Grupa III — w 2 jajnikach stwierdzono 3 ciała żółte, w pozostałych jajnikach ciałek żółtych nie wykryto. Tylko w 3 jajnikach wykryto 4 pęcherzyki Graafa. We wszystkich jajnikach stwierdzono pęcherzyki pierwotne oraz znamienne istotne zwiększenie liczby ($p < 0,001$) pęcherzyków wzrastających. Wszystkie jajniki wykazywały obecność licznych torbielek folikularnych. W tej grupie wykryto 44 torbiełki.

Grupa IV — w 6 jajnikach na 10 badanych stwierdzono 14 torbielek. Obserwuje się w tej grupie znamienne istotne zwiększenie liczby pęcherzyków wzrastających ($p < 0,001$) i ciałek żółtych ($p < 0,05$) z tendencją do zwiększania liczby pęcherzyków Graafa choć nieistotną statystycznie. W 10 jajnikach wykryto 42 pęcherzyki wzrastające, 26 pęcherzyków Graafa, 21 ciałek żółtych.



Ryc. 1. Jajnik szczurzycy po podaniu 30 mg/kg/dobę testosteronu — widoczne liczne torbiełki folikularne. Brak pęcherzyków Graafa i ciałek żółtych. Pow. 160×
 An ovary of a rat treated with 30 mg/kg/24 h of testosterone propionate — numerous follicular cysts are visible. Graaf follicles and *corpora lutea* are absent. Magn. 160×

Grupa V — w 4 jajnikach na 10 badanych wykryto 7 torbielek pęcherzyków Graafa. Nie stwierdza się w tej grupie znamiennej statystycznie stymulacji pęcherzyków wzrastających i pęcherzyków Graafa, natomiast ilość ciałek żółtych jest znamienne podwyższona ($p < 0,01$). Ilość torbielek zmniejsza się proporcjonalnie do dawki testosteronu. W jajnikach tych stwierdzono pęcherzyki pierwotne, 39 wzrastających, 28 pęcherzyków Graafa, 24 ciała żółte.

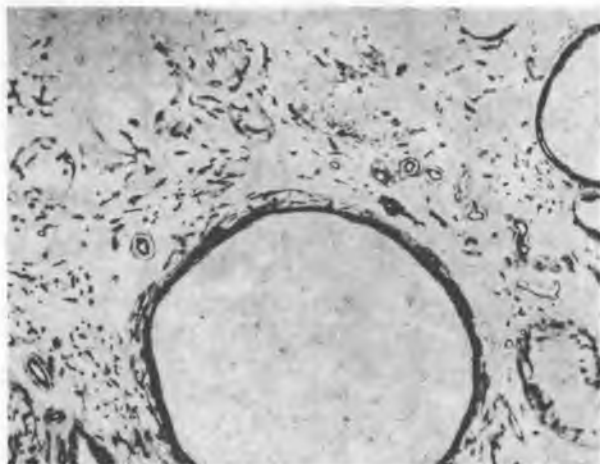
Grupa VI — w 4 jajnikach wykryto 6 torbielek pęcherzyków Graafa. W grupie tej nie obserwuje się znamienego wzrostu pęcherzyków wzrastających i pęcherzyków Graafa, natomiast ilość ciałek żółtych jest znamienne podwyższona ($p < 0,05$). Jajniki tej grupy zawierały pęcherzyki pierwotne, 38 wzrastających, 23 pęcherzyki Graafa, 19 ciałek żółtych.

II. Badania histochemiczne

Fosfataza zasadowa

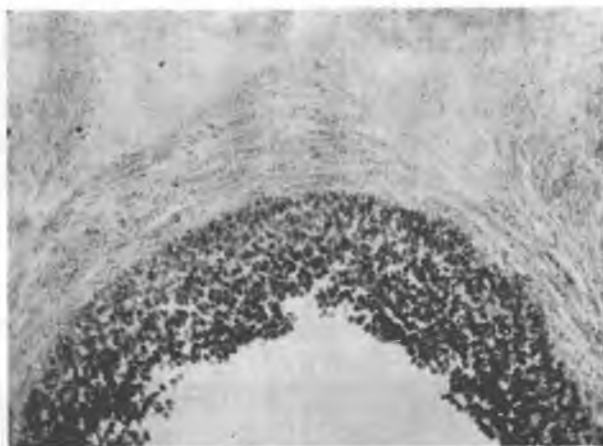
Grupa I kontrolna — dodatni odczyn na aktywność fosfatazy zasadowej występował w osłonce wewnętrznej i zewnętrznej pęcherzyków Graafa. W komórkach warstwy ziarnistej był ujemny. W pęcherzykach wzrastających odczyn był słabo dodatni. Dodatni odczyn występował w ciałkach żółtych i lokalizował się głównie w ścianie naczyń krwionośnych.

Grupy II i III — fosfataza zasadowa lokalizowała się głównie w otoczce zewnętrznej i wewnętrznej torbielek oraz pęcherzyków wzrastających (ryc. 2). Dodatni odczyn stwierdzono również w komórkach ziarnistych



Ryc. 2. Jajnik szczurzy po podaniu 30 mg/kg/dobę testosteronu — fosfataza zasadowa lokalizuje się w osłonkach torbielek oraz pęcherzyków wzrastających. Pow. 160×

An ovary of a rat treated with 30 mg/kg/24 h of testosterone propionate — reaction to alkaline phosphatase in the internal theca of cysts and in growing follicles. Magn. 160×



Ryc. 3. Jajnik szczurzy po podaniu 30 mg/kg/dobę testosteronu — dodatni odczyn na fosfatazę kwaśną w komórkach warstwy ziarnistej torbielek. Pow. 160×

An ovary of a rat treated with 30 mg/kg/24 h of testosterone propionate — positive reaction to acid phosphatase in the granular cells of cysts. Magn. 160×

pęcherzyków wzrastających. W grupie drugiej odczyn był bardziej intensywny niż w grupie doświadczalnej trzeciej.

Grupy IV, V i VI — wybitnie dodatnia reakcja na fosfatazę zasadową lokalizowała się głównie w osłonce pęcherzyków Graafa i pęcherzyków wzrastających. Dodatni odczyn występował również w komórkach ziarnistych pęcherzyków wzrastających. Wyraźny wzrost aktywności odczynu obserwowano w pęcherzykach młodych i wzrastających. Ciałka żółte wykazywały intensywny odczyn. W pojedynczych torbielkach odczyn był podobny jak w grupach doświadczalnych II i III.

F o s f a t a z a k w a ś n a

Grupa I kontrolna — pęcherzyki młode i wzrastające wykazywały bardzo słaby odczyn w osłonce wewnętrznej. W miarę dojrzewania pęcherzyków dodatni odczyn pojawiał się w warstwie ziarnistej. Dojrzałe pęcherzyki Graafa miały dodatni odczyn w osłonce wewnętrznej i w komórkach ziarnistych. Ciałka żółte wykazywały intensywną reakcję. W pęcherzykach pierwotnych odczyn był ujemny.

Grupy II i III — dodatni odczyn na fosfatazę kwaśną występował w komórkach warstwy ziarnistej torbielek (ryc. 3). Dodatni odczyn miał miejsce również w osłonce wewnętrznej i komórkach ziarnistych pęcherzyków wzrastających i był mniej intensywny w grupie III. Ujemna reakcja występowała w pęcherzykach pierwotnych.

Grupy IV, V i VI — odczyn w torbielkach podobny jak w II i III grupach doświadczalnych. W komórkach ziarnistych pęcherzyków wzrastających odczyn nasilił się w porównaniu z kontrolą. W ciałkach żółtych odczyn na fosfatazę kwaśną był gruboziarnisty.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Testosteron podawany w dawce 30 i 15 mg/kg/dobę miał wpływ na powstawanie licznych torbieli w jajnikach. Badanie mikroskopowe wykazało, że tylko 4 jajniki w obu tych grupach posiadały ciałka żółte, w pozostałych ciałek żółtych nie wykryto. Pęcherzyki Graafa występowały bardzo rzadko, głównie w stadiach wczesnego rozwoju. W obrębie jajnika pojawiały się mniejsze lub większe torbieleki folikularne otoczone warstwą komórek ziarnistych. W grupie drugiej torbieleki były większe i bardziej liczne niż w grupie trzeciej. Jak wynika z przeprowadzonych badań, te dawki testosteronu powodowały redukcję globalnej liczby pęcherzyków Graafa i ciałek żółtych a wzrost liczby torbielek. Po dawce testosteronu 1, 5, 1,0 i 0,5 mg/kg/dobę tylko w niektórych jajnikach można było stwierdzić pojedyncze torbieleki. W tych jajnikach występowała większa niż w grupie kontrolnej ilość pęcherzyków Graafa, pęcherzyków wzrastających i ciałek żółtych. Dane te pozwalają przyjąć, że testosteron

zaburza cykl dojrzewania pęcherzyków Graafa i powoduje ich bezpośrednie przejście w torbiełki, których ilość jest zależna od dawki. Z danych z piśmiennictwa wynika, że szczególna rola w powstawaniu tego schorzenia przypada układowi podwzgórzowo-przysadkowemu [Bogdanove (6), Boyd (7), Talesnik (16), Williams (18)].

Po dawce testosteronu 0,5—1,5 mg/kg/dobę widoczne były we wszystkich jajnikach zwiększone liczby pęcherzyków wzrastających, pęcherzyków Graafa i ciałek żółtych w porównaniu z grupami kontrolnymi. Pozwala to na wysunięcie przypuszczenia, że testosteron w tych dawkach stymuluje procesy przemian morfologicznych w obrębie jajnika. W jajnikach szczurzy otrzymujących testosteron w dawce 30 i 15 mg/kg/dobę fosfataza zasadowa lokalizowała się w postaci wybitnie intensywnego odczynu w osłonkach torbielek, w pęcherzykach wzrastających i w komórkach ziarnistych. Po tych dawkach testosteronu wybitnie dodatni odczyn na aktywność fosfatazy kwaśnej występował w komórkach ziarnistych torbielek, w osłonkach pęcherzyków wzrastających i w komórkach ziarnistych.

Po stosowaniu testosteronu 1,5, 1,0 i 0,5 mg/kg/dobę wybitnie intensywny odczyn dodatni na aktywność fosfatazy zasadowej występował w osłonkach pojedynczych torbielek, pęcherzyków wzrastających, komórkach ziarnistych oraz w ciałkach żółtych. Po tych dawkach testosteronu wybitnie dodatni odczyn na aktywność fosfatazy kwaśnej występował w komórkach ziarnistych torbielek. Testosteron w tych dawkach powodował również wzrost intensywności odczynu na aktywność tej fosfatazy w pęcherzykach młodych, wzrastających i młodych ciałkach żółtych.

Wzrost aktywności fosfatazy zasadowej w pęcherzykach młodych i wzrastających pod wpływem testosteronu można wiązać ze wzmożoną syntezą tego enzymu niezbędnego w czasie nasilonych procesów metabolicznych w komórce [Banon (5), Lasota (12), Pawełek (14)], natomiast wzrost aktywności fosfatazy kwaśnej wiążą niektórzy autorzy z wewnątrzkomórkowymi przemianami białkowymi [Karlson (9), Kidson (10), Vorbrodt (17)].

Wnioski

1. Testosteron podany w dawkach 30 i 15 mg/kg/dobę przez 28 dni powoduje wystąpienie licznych torbieli folikularnych w obrębie jajników, a redukcję pęcherzyków Graafa i ciałek żółtych.

2. Po wprowadzeniu testosteronu w dawkach 1,5, 1,0 i 0,5 mg/kg/dobę przez 28 dni zwiększa się w jajnikach liczba pęcherzyków wzrastających, pęcherzyków Graafa i ciałek żółtych.

3. Fosfataza zasadowa w postaci intensywnie dodatniego odczynu lo-

kalizuje się w osłonkach torbielek, natomiast kwaśna w komórkach ziarnistych.

4. Po 28 dniach stosowania testosteronu we wszystkich grupach zwierząt wzrasta nasilenie odczynu na aktywność fosfataz zasadowej i kwaśnej w pęcherzykach młodych i wzrastających, a wzrost ten jest najbardziej wyraźny w grupie otrzymującej 30 mg/kg/dobę testosteronu.

PIŚMIENNICTWO

1. Barraclough Ch. A.: *Anat. Rec.* **130**, 267—271, 1958.
2. Barraclough Ch. A., Górski R. A.: *Endocrinol.* **68**, 68—70, 1971.
3. Barraclough Ch. A.: *Endocrinol.* **69**, 62—67, 1971.
4. Barraclough Ch. A.: *Rec. Prog. in Hormone Research* **22**, 503—539, 1966.
5. Banon P., Brandea D., Frost J.: *Acta Cytol.* **8**, 416—421, 1964.
6. Bogdanove E. M.: *Endocrinol.* **60**, 689—693, 1957.
7. Boyd R., Johnson D. C.: *Acta Endocrinol.* **58**, 600—603, 1968.
8. Gomori G.: *The University of Chicago Press*, **53**, 1953.
9. Karlson P., Seceris C. E.: *Acta Endocrinol.* **53**, 505—509, 1966.
10. Kidson Ch., Kirby K. S.: *Nature* **203**, 599—601, 1964.
11. Lamond D. K.: *J. Endocrinol.* **43**, 319—321, 1969.
12. Lasota Z.: *Post. Hig. Med. Dośw.* **13**, 159—165, 1959.
13. Lisk R.: *Acta Endocrinol.* **41**, 195—204, 1962.
14. Pawełek D.: *Gin. Pol.* **40**, 83—91, 1969.
15. Pfeiffer C. A.: *Am. J. Anat.* **58**, 195—199, 1936.
16. Talesnik S., McCann S. M.: *Endocrinol.* **63**, 263—267, 1961.
17. Vorbrodt A.: *Hig. Med. Dośw.* **13**, 200—204, 1959.
18. Williams R. H.: *Endokrynologia, PZWL*, 517—530, Warszawa 1964.

Otrzymano 16 III 1976.

РЕЗЮМЕ

Применение тестостерона в дозе 30 и 15 мг/кг в сутки приводило к появлению в яичниках множества фолликулярных кист и к статистически значимому росту ($p < 0,001$) увеличивающихся пузырьков. Интенсивно положительная реакция на активность щелочной фосфатазы выступала в оболочках кист, увеличивающихся пузырьков и в зернистых клетках. Интенсивно положительная реакция на активность кислой фосфатазы наблюдалась в зернистых клетках кист, а также во внутренних оболочках и зернистых клетках увеличивающихся пузырьков.

SUMMARY

The administration of testosterone in doses of 30 and 15 mg/kg/24 h to one month old female rats resulted in the appearance of numerous follicular cysts in the ovaries and a statistically significant growth ($p < 0,001$) of increasing vesicles.

An intensively positive reaction to the activity to alkaline phosphatase was found in the internal theca folliculi of growing folliculus and in the granular cells.

An intensively positive reaction to the acid phosphatase occurred in the granular cells of cysts and in the theca interna and in the granular cells of growing follicles.

