

Group	No. of rats	Body weight g	Died within			Average survival time h	Incidence of pituitary necrosis
			6 h	24 h	48 h		
Untreated control	20	205 ± 2.7 ^a	0	0	0	—	0 ^b /0 ^c
Hexadimethrine bromide (HB)	20	208 ± 3.2	0	1	4	46 ± 1.3	7/20
Alloxan + 2 days later HB	18	228 ± 4.3	0	1	2	46 ± 1.5	4/18
Alloxan + 6 days later HB	13	171 ± 7.8	0	1	1	45 ± 2.8	2/13
Alloxan + 30 days later HB	9	187 ± 3.9	0	2	2	40 ± 5.3	2/9
Insulin	20	204 ± 2.8	0	0	0	48	0/20
Insulin + HB	40	199 ± 3.3	32	32	34	12 ± 2.9	7/8
Heparin + insulin + HB	10	205 ± 0.9	0	0	0	48	0/10
Pipolphen + insulin + HB	11	190 ± 3.7	3	9	11	15 ± 4.4	2/8
Polymyxin-pretreatment + insulin + HB	10	201 ± 2.7	4	4	4	30 ± 7.2	2/6
Compound 48/80-pretreatment + insulin + HB	18	200 ± 4.0	5	5	8	35 ± 4.7	1/13

^a Standard error. ^b No. of rats with pituitary necrosis. ^c No. of investigated rats.

HB is an antiheparin agent and causes disruption of mast cells thus inducing histamine and serotonin release⁶⁻⁷. It was therefore further examined whether administration of heparin (Richter, Budapest) and Pipolphen (promethazine, E.Gy.T., Budapest) as well as pretreatment with polymyxin (polymyxin B sulphate, Pfizer, Brussels) and compound 48/80 (Wellcome Research Laboratories, Langley Court, Beckenham) to deplete histamine stores may modify the potentiating effect of insulin on that of HB. Heparin (10 mg of heparin i.p. 15 min prior and 4 h later to HB and insulin administration) offered complete protection. This, however, did not throw any light on the pathogenesis of the process as heparin neutralizes HB in vitro and in vivo. Pipolphen (10 mg of pipolphen i.p. 15 min prior and 1, 2, 3 h later to HB and insulin administration) did not significantly influence mortality and survival time, whereas frequency of adeno-hypophyseal necrosis was reduced. Pretreatment with polymyxin (2 × 0.5 mg for 2 days, 2 × 1.0 mg for 2 days, 2 × 1.5 mg for 2 days i.p.; on the seventh day HB and insulin administration) and compound 48/80 (2 × 0.1 mg on the first day, 2 × 0.2 mg on the second day, 2 × 0.3 mg on the third day, 2 × 0.4 mg on the fourth day, 2 × 0.5 mg on the fifth day i.p.; on the sixth day HB and insulin administration) was effective; survival time was fairly well extended, mortality and frequency of pituitary necrosis decreased.

Further experiments are needed to elucidate the exact mechanism of the sensitizing effect of insulin (or hypoglycaemia). It is known that HB releases histamine and, as the potentiating action of insulin does not occur in rats depleted of their histamine stores due to polymyxin and compound 48/80 pretreatment, it can be supposed that histamine plays an important role in the potentiating effect of insulin. This assumption is not contradicted by the fact that pipolphen possessed only a weak protective effect; obviously it could not be administered in such a large dose to accumulate in an effective amount on the

receptor sites. Other authors⁸⁻¹⁰ demonstrated that insulin hypoglycaemia potentiated also the effect of other histamine releasers and increased their toxicity. Insulin may promote the release of histamine or sensitize the capillaries to the effect of histamine, or it may intensify in the presence of histamine the vascular changes caused by HB leading to an arrest of adeno-hypophyseal circulation and subsequently ischaemic infarction.

Zusammenfassung. Während Alloxan Diabetes die Sensitivität der Ratten für die Wirkung des Hexadimethrin-Bromid (HB) nicht steigert, bewirkt Insulinbehandlung eine starke Erhöhung der HB-Empfindlichkeit. Die Mehrzahl der mit Insulin + HB simultan behandelten Ratten starb innerhalb von 2 Tagen, und in den Adeno-hypophysen zeigten sich häufig Nekrosen. Da die potenzierende Wirkung des Insulins bei Ratten, deren Histamin-Depots durch Vorbehandlung mit Polymyxin und Substanz 48/80 depletiert worden waren, nicht zur Geltung kam, wird angenommen, dass beim HB-potenzierenden Effekt des Insulins auch das Histamin eine Rolle spielt.

K. Kovács and I. Szijj

First Department of Medicine, University Medical School, Szeged (Hungary), 11 October 1967.

⁵ E. T. KIMURA, P. R. YOUNG, R. J. STEIN and R. K. RICHARDS, *Toxic. appl. Pharmac.* 1, 185 (1959).

⁶ E. T. KIMURA, P. R. YOUNG and D. M. EBERT, *Toxic. appl. Pharmac.* 1, 560 (1959).

⁷ E. T. KIMURA, P. R. YOUNG and R. K. RICHARDS, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 107, 19 (1961).

⁸ A. GOTH, W. L. NASH, M. NAGLER and J. HOLMAN, *Am. J. Physiol.* 191, 25 (1957).

⁹ V. W. ADAMKIEWICZ, *Can. med. Ass. J.* 88, 806 (1963).

¹⁰ V. W. ADAMKIEWICZ and P. J. SACRA, *Fedn Proc. Fedn Am. Soc. exp. Biol.* 26, 224 (1967).

La Rigenerazione del testicolo atrofico da Fluoroacetamide

In una precedente pubblicazione¹ abbiamo descritto una distruzione dell'epitelio germinativo nel testicolo di ratti trattati per os con fluoroacetamide (FAA).

Tale risultato è stato da noi attribuito ad un'azione selettiva esercitata dalla sostanza sull'epitelio germinale.

Nella presente nota riferiamo con quali modalità ed in quale lasso di tempo sia possibile ottenere, sospendendo

la somministrazione della FAA, una ripresa della funzionalità dell'organo.

Le nostre indagini sono state condotte su 25 ratti albini, del peso oscillante fra 160-180 g, a cui la FAA è

¹ L. MAZZANTI, M. LOPEZ e M. G. BERTI, *Experientia* 20, 492 (1964).

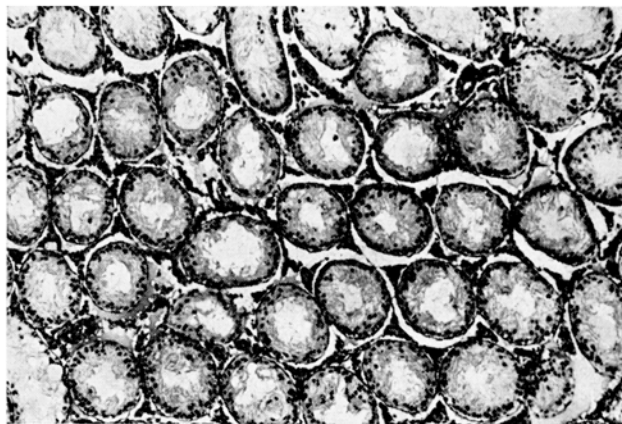


Fig. 1. Testicolo di ratto dopo 28 giorni di trattamento con fluoroacetamide. $\times 258$.

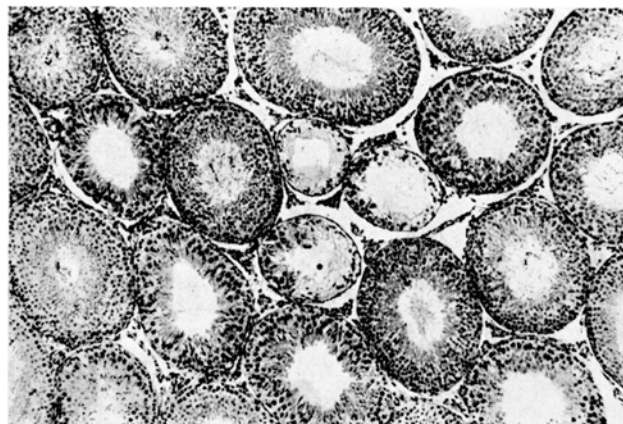


Fig. 3. Testicolo di ratto trattato per 28 giorni con fluoroacetamide dopo 165 giorni dall'interruzione del trattamento. $\times 258$.

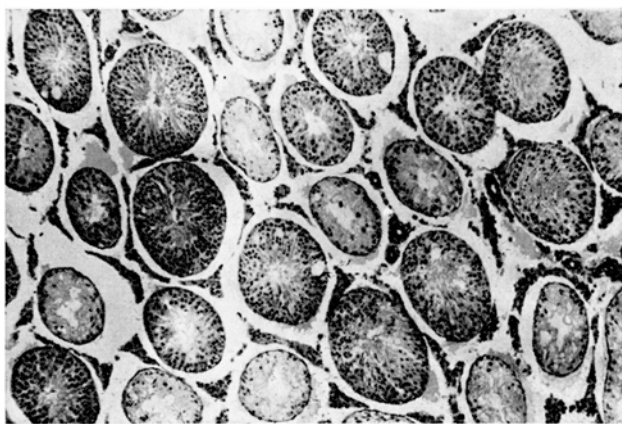


Fig. 2. Testicolo di ratto trattato per 28 giorni con fluoroacetamide dopo 50 giorni dall'interruzione del trattamento. $\times 258$.

stata somministrata per via orale mescolata al cibo alla dose di 50 mg/kg di alimento.

Il trattamento è stato continuato, sulla base dei risultati della precedente ricerca, per 28 giorni, al termine dei quali, dopo aver sacrificato 5 ratti per un controllo istologico dell'intensità delle lesioni raggiunte, è stata sospesa la somministrazione della FAA ed è stata continuata l'alimentazione con la sola dieta equilibrata standard.

A varia distanza di tempo dall'interruzione della somministrazione del tossico e precisamente dopo 12, 21, 50 e 165 giorni, si sono sacrificati 5 ratti per volta mediante dissanguamento: i testicoli per l'esame istologico, che è stato condotto su sezioni colorate con i comuni metodi, sono stati fissati in Bouin.

Negli animali trattati per 28 giorni con FAA la quasi totalità dei tubuli seminiferi, i cui calibri sono apparsi notevolmente ridotti di volume, ha rivelato una scomparsa quasi completa dei vari stadi maturativi delle cellule seminali.

La stragrande maggioranza di essi è infatti risultata formata dalle sole cellule del Sertoli; raramente si sono riconosciuti qualche spermatogonio e qualche stadio maturativo intermedio della linea seminale in preda ad alterazioni regressive di varia entità.

Dopo 12 giorni dalla sospensione del trattamento con FAA in un discreto numero di tubuli seminiferi si sono dimostrati fenomeni rigenerativi dell'epitelio seminale, per cui nei tubuli stessi si sono riscontrati, accanto a qualche spermatogonio, altri stadi maturativi della linea seminale, limitatamente, peraltro, a quelli intermedi (spermatociti e spermatidi).

Detto processo in alcuni tubuli è limitato ad un tratto del contorno, in altri si estende a buona parte del contorno stesso, per arrivare, a volte, ad interessare tutta la parete tubulare.

Nell'interstizio discreto grado di dissociazione edematosa e congestione vasale.

Non alterazioni morfologiche né numeriche delle cellule interstiziali.

Dopo 21 giorni dalla sospensione del trattamento il quadro morfologico è pressoché sovrapponibile a quello descritto negli animali del lotto precedente.

Dopo 50 giorni il fenomeno proliferativo segnalato interessa un numero maggiore di tubuli, risultando per lo più esteso a tutto il contorno dei tubuli stessi.

Unitamente agli stadi maturativi intermedi della linea seminale, si è constatata la comparsa di qualche spermatozoo.

Dopo 165 giorni la rigenerazione dell'epitelio seminale si è esteso a quasi tutto il testicolo, risultando ormai rari i tubuli coartati e sprovvisti di cellule seminali.

Tutti gli stadi maturativi della linea seminale sono ugualmente rappresentati, per cui si può dire che la struttura testicolare sia quasi reintegrata.

Nell'interstizio modesto grado edematoso e modesta condizione congestizia.

I quadri morfologici descritti riteniamo che siano sufficienti per dimostrare la possibilità della rigenerazione dell'epitelio seminale nell'intossicazione da FAA.

Summary. Morphological changes of atrophic testis, obtained by treating normal rats with fluoroacetamide, are studied at various times after treatment. The data show that the testicular germinal epithelium is fully regenerated 165 days after treatment.

L. MAZZANTI, M. LOPEZ e
M. DEL TACCA

*Istituto di Farmacologia, Università di Pisa (Italia),
21 settembre 1967.*