

Katedra i Zakład Patomorfologii. Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: prof. dr hab. n. med. Daniel Chibowski
Zakład Higieny Ogólnej. Instytut Medycyny Społecznej. Akademia Medyczna w Lublinie.
Kierownik: doc. dr hab. n. med. Zbigniew Borzęcki

Franciszek WOŹNIAK, Zbigniew BORZĘCKI, Zofia ŚWIĘS

Badania histopatologiczne i histochemiczne wątroby szczura pozostającego pod wpływem długotrwałego doświadczalnego stosowania dwuchromianu potasu

Histopathological and Histochemical Examination of the Effect of Prolonged Experimental Application of Potassium Bichromate on the Rat's Liver

Związki chromu są szeroko stosowane w przemyśle, między innymi w garbarniach przy wyprawianiu skór. Powszechnie znane jest drażniące działanie tych związków na skórę, prowadzące do choroby zawodowej — alergicznego zapalenia skóry (1, 2). Związki chromu działają także drażniaco na górne drogi oddechowe. Stosunkowo mało poznane jest działanie tych związków na narządy wewnętrzne przy długotrwałym kontakcie z nimi (4, 5, 6).

W podjętych badaniach postanowiono sprawdzić, jaki jest wpływ długotrwałego podawania dwuchromianu potasu w różnych dawkach na obraz histologiczny i wybrane odczyny histochemiczne wątroby szczura.

MATERIAŁ I METODYKA BADAŃ

Do badań użyto 25 szczurów płci męskiej rasy Wistar, genetycznie jednorodnych, żyjących w czasie doświadczenia w stałych warunkach środowiskowych, karmionych standardową paszą LSM i wodą *ad libitum*. Waga szczurów wynosiła 150—180 g.

Zwierzęta podzielono na 5 grup po 5 szczurów każda, w tym 4 grupy doświadczalne (A, B, C, D) i 1 grupa kontrolna. Zwierzęta grup doświadczalnych w okresie 30 dni otrzymywały:

Grupa A — dwuchromian potasu ($K_2Cr_2O_7$) w ilości 2 mg/kg m.c.

Grupa B — dwuchromian potasu w ilości 5 mg/kg m.c.

Grupa C — dwuchromian potasu w ilości 5 mg/kg m.c. + chlorek magnezu w ilości 500 mg/kg m.c.

Grupa D — chlorek magnezu ($MgCl_2$) w ilości 500 mg/kg m.c.

Grupa kontrolna otrzymywała sól fizjologiczną.

Wyżej wymienione związki chemiczne oraz sól fizjologiczna podawane były dootrzewnowo 2 razy w tygodniu.

Po zakończeniu doświadczenia zwierzęta zabijano przez dekapitację. W badaniu makroskopowym narządów wewnętrznych pobierano wycinki z wątroby i utrwalano je w 10% zbuforowanej

formalinie. Preparaty z bloczków parafinowych barwiono stosując następujące metody: 1) hemato-ksylinę i eozynę alkoholową; 2) impregnację włókien srebrochłonnych według Gomoriego (3); 3) barwienie tłuszczów Sudanem IV (z wycinków mrożonych). Przeprowadzono również następujące odczyny histochemiczne: 1) fosfatazę kwaśną (ACP-azę) według Gomoriego (3); 2) fosfatazę zasadową (ALP-azę) według Gomoriego (3); 3) adenozynotrójfosfatazą (ATP-azę) według Wachsteina i Meisel (7).

WYNIKI BADAŃ

BADANIA HISTOPATOLOGICZNE

Grupa kontrolna. Architektonika zrazików wątroby w tej grupie odpowiadała opisom „normy”. Układ beleczek wątrobowych był promienisty i zbieżny w kierunku żyły centralnej. Hepatocyty wieloboczne jednojądrowe, rzadko dwujądrowe, miały dobrze widoczne granice komórkowe. Cytoplazma komórek wątrobowych wykazywała zasadochłonne ziarnistości. Włókna srebrochłonne były delikatne, oplatały hepatocyty; najlepiej uwidaczniały się w przestrzeniach bramnożółciowych. Podczas barwienia Sudanem IV nie wykryto obecności wakuoli tłuszczowych.

Grupa A. Obraz histologiczny wątroby był taki sam jak w grupie kontrolnej. Nie wykazano także obecności wakuoli tłuszczowych w hepatocytach.

Grupa B. W porównaniu do grupy kontrolnej zaznaczone były cechy przyćmienia mięszonego i nekrobiozy nielicznych komórek wątrobowych, głównie strefy centralnej zrazików. Komórki wątrobowe miały zwiększoną liczbę ziarenek kwasochłonnych, a niektóre z nich — nieostre granice komórkowe oraz nieostry zarys jąder komórkowych. Pojedyncze komórki wykazywały cechy zwyrodnienia kwasochłonnego (homogenność cytoplazmy komórkowej). W preparatach mrożonych po użyciu Sudanu IV stwierdzono w części hepatocytów drobne wakuole tłuszczowe.

Grupa C. Obraz histopatologiczny wątroby był taki sam jak w grupie B.

Grupa D. Obraz histopatologiczny wątroby zwierząt nie różnił się od grupy kontrolnej.

BADANIA HISTOCHEMICZNE

Fosfataza kwaśna (ACP-aza)

Grupa kontrolna. Dodatni, delikatny odczyn ziarnisty na fosfatazę kwaśną lokalizował się w sąsiedztwie kanalików żółciowych, a także w komórkach Browicz-Kupfera. Intensywność odczynu była równomierna we wszystkich strefach zrazika.

Grupa A: Nie stwierdzono zmian w nasileniu odczynu histochemicznego na ACP-azę w porównaniu z grupą kontrolną.

Grupa B. Nastąpiło wzmoczenie odczynu histochemicznego na ACP-azę. Ziarnistości w komórkach były silniej wysycone, chaotycznie rozmieszczone w cytoplazmie komórkowej, głównie hepatocytów strefy centralnej. W strefie pośredniej i brzeżnej lokalizacja ziarnistości z dodatnim odczynem na ACP-azę była taka sama jak w grupie kontrolnej.

Grupa C. Odczyn na fosfatazę kwaśną w tej grupie był podobny do odczynu w grupie B.

Grupa D. Nasilenie odczynu histochemicznego na fosfatazę kwaśną nie różniło się od obserwowanego w grupie kontrolnej.

Fosfataza zasadowa (ALP-aza)

Grupa kontrolna. Dodatni odczyn na fosfatazę zasadową występował w naczyniach zatokowych i przewodach żółciowych oraz śródbrłunku naczyniowym.

Grupy A, B, C, D. Odczyn histochemiczny na fosfatazę zasadową w wątrobie zwierząt grup doświadczalnych był taki sam i nie różnił się od obserwowanego w grupie kontrolnej.

Adenozynotrójfosfataza (ATP-aza)

Grupa kontrolna. Dodatni odczyn na ATP-azę występował w kanalikach żółciowych, a także obejmował komórki śródbrłoków naczyń tętniczych i żylnych oraz komórki naczyń zatokowych. Miał on jednakowe nasilenie we wszystkich strefach zrazików wątroby.

Grupy A, B, C, D. Nie stwierdzono zmian w nasileniu odczynu histochemicznego na ATP-azę w porównaniu z grupą kontrolną.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Chrom jest związkiem chemicznym wydalającym się bardzo wolno z organizmu, pozostaje w nim ok. 140 dni (1). Zalegając przez długi okres w narządach wewnętrznych (głównie w płucach i śledzionie, ale także w wątrobie), działa na hepatocyty cytotoksycznie. Powoduje uszkodzenie struktur cytoplazmatycznych, o czym świadczy wzmoczenie odczynu histochemicznego na fosfatazę kwaśną w wątrobie. Dłuższa ekspozycja na związki chromu, zwłaszcza w większych dawkach, wywołuje uchwytnie zmiany histopatologiczne w wątrobie w postaci przyćmienia miąższowego, stłuszczenia hepatocytów, a także obumierania komórek wątrobowych. Przy łącznym podawaniu związków chromu i chlorku magnezu zmiany były podobne jak przy podawaniu samego chromu. Przeczy to przyjmowanemu pogładowi o ochronnym działaniu chlorku magnezu w stosunku do cytotoksycznego działania związków chromu.

Wnio ski

1. Dwuchromian potasu podawany w małych dawkach przez dłuższy okres nie wywołuje uchwytnych zmian histopatologicznych w wątrobie szczura. Większe dawki natomiast powodują powstanie w wątrobie zmian histopatologicznych w postaci przyćmienia miąższowego, zwyrodnienia tłuszczowego i obumierania hepatocytów. Zmiany te mają charakter ogniskowy.

2. Przy podawaniu małych dawek dwuchromianu potasu nie stwierdzono w wątrobie zmian w nasileniu odczynów histochemicznych na fosfatazy: kwaśną i zasadową, a także adenozyntroójfosfatazę. Większe dawki dwuchromianu potasu wywołują natomiast wyraźne wzmoczenie odczynu histochemicznego na fosfatazę kwaśną.

3. Nie stwierdzono ochronnego działania chlorku magnezu w stosunku do cytotoksycznego wpływu dwuchromianu potasu.

PIŚMIENNICTWO

1. Baetjer A. M. i wsp.: Distribution and Retention of Chromium in Man and Animals. Arch. Ind. Health **20**, 136, 1959.
2. Bulikowski W. i wsp.: Wyniki atomopilogramów przed i po profilaktycznej kuracji dolomitem w grupie garbarzy narażonych na chrom. Streszczenia referatów VI Zjazdu PTMP. Gdańsk 1988.
3. Gomori G.: Microscopic Histochemistry. The University of Chicago Press. 1953.
4. Laborda R. i wsp.: Nephrotoxic and Hepatotoxic Effects of Chromium in Rats. Bull. Environ. Contam. Toxicol. **86**, 332, 1986.
5. Pearson D. i wsp.: Mechanism of Chromium Carcinogenesis. Acta Pharmacol. Toxicol. **59**, suppl. 7, 260, 1986.
6. Steinmetz-Markiewicz Z. i wsp.: Rakotwórcze i immunomodulacyjne właściwości chromu. Pol. Tyg. Lek. **41**, 870, 1986.
7. Wachstein M. i wsp.: Histochemistry of Hepatic Phosphates at a Physiologic *pH*. Am. J. Clin. Path. **27**, 13, 1957.

Otrzymano 1990.11.23.

SUMMARY

The rats were given potassium bichromate ($K_2Cr_2O_7$) in dose of 2 and 5 mg/kg of body weight and magnesium chloride ($MgCl_2$) in dose of 500 mg/kg for a period of 30 days. The two compounds were also given conjointly ($K_2Cr_2O_7$ — 5 mg + $MgCl_2$ — 500 mg).

There were carried out histopathological as well as histochemical examinations of acid phosphatase activity, alkaline phosphatase activity and adenosine triphosphatase activity in the liver. With small doses (2 mg) of potassium bichromate no changes have been stated. With larger doses (5 mg) of potassium bichromate an increase of histochemical reaction to acid phosphatase as well as forming of histopathological changes such as parenchymatous degeneration, steatosis of hepatocytes and their necrobiosis have been observed. There has not been found any protective action of magnesium chloride on the cytotoxic activity of potassium bichromate on the liver cell.