

Dane z piśmiennictwa — sugerujące, że wolny rodnik $\cdot\text{CCl}_3$ wytwarzany jest w MFO oraz fakty przemawiające za tym, że ten układ enzymatyczny zlokalizowany jest w siateczce śródplazmatycznej — skłoniły nas do zastosowania fenobarbitalu, znanego induktora SER, aby sprawdzić, czy na skutek zwiększonej ilości wolnych rodników $\cdot\text{CCl}_3$ uzyskamy wykładniki morfologiczne uszkodzenia hepatocytów wcześniej i o większym nasileniu.

MATERIAŁ I METODYKA BADAŃ

Badania przeprowadzono na 100 szczurach, samcach szczepu Wistar o c.c. 180–240 g. Do badań użyto fenobarbitalu sodu (Phenobarbitalum Natrium B.P. 63 G.D.B.) oraz CCl_4 produkcji krajowej (POCH — Gliwice).

Fenobarbital podawano szczurom dootrzewnowo w dawce 100 mg/100 g c.c. przez kolejnych 5 dni. Jednorazową dawkę czterochloru węgla (0,1 ml CCl_4 /100 g c.c. lub 0,5 ml CCl_4 /100 g c.c.) podawano zwierzętom sondą dożołądkową w oleju parafinowym.

Doświadczenie wstępne przeprowadzono na 10 szczurach. Zwierzętom podano letalną dawkę CCl_4 (0,5 ml CCl_4 /100 g c.c.). Upřednio podawano fenobarbital 5 szczurom w dawce 10 mg/100 g c.c. przez kolejnych 5 dni. Po 6 godz. działania letalnej dawki CCl_4 stwierdzono znacznie zaawansowane zmiany morfologiczne w wątrobie pobranej od obu grup zwierząt. Fakt ten utrudniał ocenę stopnia zakładanego przez nas zwiększania się wykładników morfologicznych uszkodzenia przez CCl_4 hepatocytów po upředniej indukcji fenobarbitalęm, dlatego dawkę CCl_4 stopniowo obniżano, aby stworzyć optymalne warunki umożliwiające odróżnienie stopnia nasilenia zmian morfologicznych wywołanych przez toksyczne działanie CCl_4 na hepatocyt normalny od zmian spostrzeganych w hepatocytach poddanych działaniu fenobarbitalu. Na tej drodze ustalono, że optymalna jest dawka 0,1 ml CCl_4 /100 g c.c. i dlatego tę dawkę stosowano w całym doświadczeniu.

Zwierzęta podzielono na 2 grupy kontrolne i 2 grupy doświadczalne: grupa I kontrolna — zwierzęta zdrowe (5 sztuk); grupa II kontrolna — zwierzęta, które otrzymywały fenobarbital w dawce 10 mg/100 g c.c. przez kolejnych 5 dni (5 sztuk); grupa I doświadczalna — zwierzęta, które otrzymywały CCl_4 w dawce 0,1 ml/100 g c.c. i były zabijane po 5, 10, 20 i 30 min. oraz po 1, 2, 4 i 6 godz. (40 sztuk); grupa II doświadczalna — zwierzęta, którym podawano fenobarbital w dawce 10 mg/100 g c.c. przez kolejnych 5 dni, a po 24 godz. od ostatniej iniekcji fenobarbitalu CCl_4 w dawce 0,1 ml/100 g c.c. Zwierzęta zabijano po 5, 10, 20 i 30 min. oraz po 1, 2, 4 i 6 godz. (40 sztuk). Każdorazowo pobierano wycinki z centralnego płata wątroby bezpośrednio po zabiciu zwierzęcia i utrwalano: w 10% formalinie, płynie Backera i w alkoholu absolutnym nasyconym kwasem pikrynowym. Stosowano temperaturę utrwalania w zależności od wymagań metody. Po 24 godz. utrwalania w płynie Backera wycinki krojono na mikrotomie mroźniowym na skrawki grubości 10 μm i wykonywano odczyn na ATP-azę według Wachsteina i Meisel (1957). Nie utrwalone wycinki wątroby, na których wykonywano odczyn na glukozo-6-fosfatazę (G-6-P-azę) według metody Wachsteina i Meisel (1956), zamrażano w eterze naftowym ochłodzonym mieszaniną aceton — suchy lód do temp. -76°C i bezpośrednio krojono na skrawki grubości 8 μm w kriostacie POLAR LM 11 w temp. ok. -14°C . Glikogen wykrywano metodą PAS według McManusa w modyfikacji Kiszeli (1962). Skrawki kontrolne na glikogen trawiono diastazą ślinową w temp. 37°C . Tłuszcze badano metodą fluorescencyjną według Berga (1965) przy użyciu 3–4 benzopirenu oraz czerwienią oleistą „O” według Lillego (1954). Wycinki do barwienia H + E zatapiano w parafinie.

WYNIKI BADAŃ

BADANIA HISTOLOGICZNE

Barwienie przeglądowe H + E

Grupa I kontrolna. Architektura zrazików wątroby szczurów odpowiadała opisom „normy”.

Grupa II kontrolna. Po podawaniu fenobarbitalu stwierdzono powiększenie wymiarów hepatocytów w porównaniu z grupą I kontrolną. Ponadto obserwowano niewielkie zmniejszenie liczby ziarnistości zasadochłonnych w cytoplazmie hepatocytów, zwłaszcza w strefie centralnej zrazika.

Grupa I doświadczalna. Po 5, 10, 20 i 30 min. działania CCl_4 nie zauważono żadnych zaburzeń w architektonice zrazika wątrobowego. Wyraźne zmniejszenie liczby ziarnistości zasadochłonnych obserwowano w cytoplazmie hepatocytów strefy centralnej zrazika po 1 godz. działania CCl_4 . Po 2 godz. działania CCl_4 w strefie centralnej zrazika stwierdzono pojedyncze hepatocyty z wyraźnie kwasochłonną cytoplazmą. Ponadto w większości hepatocytów tej strefy obserwowano w cytoplazmie liczne drobne wakuole po wylugowanych lipidach, co potwierdzono barwieniem na tłuszczce. Po 4 godz. działania CCl_4 w strefie centralnej zrazika obserwowano znaczną liczbę hepatocytów z cechami zwyrodnienia kwasochłonnego i tłuszczowego. Również hepatocyty strefy pośredniej wykazywały cechy stłuszczenia. Jedynie hepatocyty strefy brzeżnej zachowywały wygląd prawidłowy. Zauważono, że hepatocyty o cechach martwicy skrzepowej występowały najliczniej w sąsiedztwie większych naczyń żylnych. Komórki te miały wygląd różnokształtnych brył intensywnie barwiących się eozyną, a ich jądra były pyknotyczne. Ponadto obserwowano w naczyniach zatokowych martwiczo zmienione hepatocyty lub ich kwasochłonne resztki, wokół których występowały drobnoogniskowe nacieki komórek jednojądrowych. Po 6 godz. działania CCl_4 na wątrobę szczura opisane wyżej zmiany dotyczyły większej liczby hepatocytów strefy centralnej i pośredniej zrazika wątrobowego (ryc. 1). Na pograniczu strefy pośredniej i brzeżnej były widoczne pojedyncze hepatocyty „balonowate”. Komórki te nie wykazywały obecności wakuoli tłuszczowych ani ziarnistości PAS-dodatnich. Zwyrodnienie tłuszczowe dotyczyło również hepatocytów strefy brzeżnej zrazika. Zmianom tym towarzyszyły liczniejsze i bardziej obfite nacieki z komórek jednojądrowych.

Grupa II doświadczalna. Obraz mikroskopowy wątroby indukowanej fenobarbitem i następnie poddanej działaniu CCl_4 charakteryzował się wcześniejszym pojawieniem się zmian wstecznych w porównaniu z grupą I doświadczalną. Po 5 i 10 min. działania CCl_4 na wątrobę uprzednio indukowaną fenobarbitem nie obserwowano żadnych różnic morfologicznych w porównaniu z obrazem wątroby zwierząt grupy II kontrolnej. Pierwszą uchwytą

zmianą, polegającą na zmniejszeniu liczby ziarnistości zasadochłonnych w cytoplazmie hepatocytów strefy centralnej zrazika wątrobowego, spostrzeżono już po 20 min. działania CCl_4 . Natomiast zupełne zniknięcie ziarnistości zasadochłonnych w cytoplazmie hepatocytów strefy centralnej zrazika stwierdzono po 1 godz. działania CCl_4 . Liczne hepatocyty strefy centralnej wykazywały cechy zwyrodnienia tłuszczowego, a nieliczne miały homogenną i kwasochłonną cytoplazmę. Zmiany te w grupie I doświadczalnej obserwowano dopiero po 2 godz. działania CCl_4 . Po 2 godz. działania CCl_4 na wątrobę indukowaną fenobarbitem w strefie centralnej zrazika obserwowano pojedyncze hepatocyty z cechami martwicy skrzepowej, których liczba uległa znacznemu zwiększeniu po 4 godz. działania CCl_4 . Hepatocyty z cechami zwyrodnienia kwasochłonnego i martwicy skrzepowej szczególnie licznie występowały w sąsiedztwie żył podzrazikowych. Oprócz hepatocytów martwiczych występowały pojedyncze hepatocyty balonowate, które w grupie I doświadczalnej pojawiały się dopiero po 6 godz. działania CCl_4 . Podobnie jak w grupie I doświadczalnej, martwicy skrzepowej towarzyszyły nacieki z komórek jednojądrowych. Po 6 godz. działania CCl_4 na wątrobę indukowaną fenobarbitem zmiany morfologiczne były wyraźnie nasilone i obejmowały wszystkie strefy zrazika wątrobowego (ryc. 2).

Po 6 godz. działania CCl_4 w dawce letalnej (0,5 ml/100 g c.c.) zauważono, że w grupie zwierząt uprzednio indukowanych fenobarbitem, jak i bez wstępnej indukcji, zmiany morfologiczne wykazywały znaczny stopień zaawansowania i były do siebie zbliżone.

BADANIA HISTOCHEMICZNE

Wykrywanie tłuszczu

Metodą fluorescencyjną oraz czerwienią oleistą „O” w skrawkach wątroby szczurów grup kontrolnych (I i II), a także w obu grupach doświadczalnych (I i II) po 5, 10, 20 i 30 min. po podaniu zwierzętom CCl_4 nie stwierdzono zmian o charakterze zwyrodnienia tłuszczowego. Po 1 godz. działania CCl_4 w grupie I doświadczalnej obserwowano pojedyncze hepatocyty wykazujące zwiększoną liczbę wakuoli tłuszczowych w strefie centralnej zrazika. Po tym samym czasie działania CCl_4 w grupie II doświadczalnej zauważono bardziej obfite nagromadzenie wakuoli tłuszczowych różnej wielkości w większej liczbie hepatocytów, zarówno w strefie centralnej, jak i pośredniej. Podobny obraz obserwowano w grupie I doświadczalnej po 2 godz. działania CCl_4 . Zauważono, że stłuszczenie zaczynało się w strefie centralnej i przesunęło się w kierunku triady wątrobowej. Począwszy od 2 godz. działania CCl_4 w grupie II doświadczalnej i od 4 godz. w grupie I doświadczalnej (ryc. 3 i 4), obserwowane stłuszczenie miało charakter rozlany i obejmowało wszystkie strefy zrazika. Zwyrodnienie

tłuszczowe było bardziej nasilone w grupie II doświadczalnej po uprzedniej indukcji fenobarbitem (ryc. 4).

Glikogen w reakcji PAS

W obu grupach doświadczalnych (I i II) w miarę upływu czasu działania CCl_4 obserwowano stopniowe nierównomierne zmniejszanie się ilości glikogenu w hepatocytach strefy centralnej zrazika, aż do zupełnego zniknięcia także w strefie brzeżnej. Zmniejszenie intensywności odczynu na glikogen w hepatocytach strefy centralnej zrazika w grupie II doświadczalnej zaobserwowano po 30 min. działania CCl_4 . Podobny obraz w grupie I doświadczalnej zauważono dopiero po 1 godz. działania CCl_4 . Po 2 godz. działania CCl_4 w grupie I doświadczalnej zauważono mozaikowate rozmieszczenie hepatocytów wykazujących różną intensywność nasilenia odczynu na glikogen (ryc. 5). Po tym samym czasie działania CCl_4 u zwierząt w grupie II doświadczalnej intensywny odczyn na glikogen występował jedynie w hepatocytach strefy pośredniej i brzeżnej, natomiast hepatocyty strefy centralnej wykazywały odczyn ujemny (ryc. 6). Po 4 godz. działania CCl_4 w grupie I doświadczalnej słabo dodatni odczyn na glikogen obserwowano jedynie w hepatocytach strefy brzeżnej, natomiast w grupie II doświadczalnej tylko nieliczne hepatocyty wokół triad wykazywały słabo dodatni odczyn w reakcji PAS po tym samym czasie działania CCl_4 .

Adenozynotrójfosfataza (ATP-aza)

Zmiany dotyczące ATP-azy w wątrobie badanych zwierząt były mniej charakterystyczne. Intensywność odczynów na ten enzym u szczurów poddanych działaniu CCl_4 ulegała postępującemu osłabieniu, przy czym obniżenie intensywności reakcji było proporcjonalne do zmian zwyrodnieniowych i martwiczych.

W wątrobie zwierząt grupy I doświadczalnej odczyn na ATP-azę po 1 godz. działania CCl_4 (ryc. 8) nie wykazywał różnic w porównaniu z grupą I kontrolną (ryc. 7). Dopiero po 2 godz. działania CCl_4 obserwowano nieznaczne osłabienie intensywności odczynu w obrębie kanalików żółciowych strefy centralnej zrazika (ryc. 9). Po dłuższym czasie (4 i 6 godz.) działania CCl_4 obserwowano postępujące osłabienie reakcji na ATP-azę, aż do zupełnego zniknięcia odczynu w obrębie kanalików żółciowych strefy centralnej zrazika (ryc. 10).

W grupie II doświadczalnej jeszcze po 20 min. działania CCl_4 na wątrobę indukowaną fenobarbitem (ryc. 12) nie obserwowano różnic w intensywności odczynu na ATP-azę w porównaniu z grupą II kontrolną — po fenobarbitalu (ryc. 11). Po 1 godz. działania CCl_4 stwierdzono osłabienie reakcji na ATP-azę w kanalikach żółciowych hepatocytów strefy centralnej zrazika. Wyraźne obniżenie intensywności odczynu na ATP-azę w tej strefie zrazika było bardziej

nasilone po 2 godz. działania CCl_4 (ryc. 13). Obraz taki obserwowano w grupie I doświadczalnej po 4 godz. działania CCl_4 , natomiast w grupie II doświadczalnej po tym samym czasie działania CCl_4 obserwowano dalsze obniżenie reakcji na ATP-azę w kanalikach żółciowych hepatocytów strefy centralnej zrazika oraz w świetle naczyń żylnych, aż do całkowitego zniknięcia i pojawienia się w tych miejscach odczynu dyfuzyjnego (ryc. 14).

Glukozo-6-fosfataza (G-6-P-aza)

U zwierząt grupy I kontrolnej intensywność odczynu na badany enzym była wyraźniejsza w hepatocytach strefy centralnej zrazika (ryc. 15) w porównaniu z grupą szczurów po fenobarbitalu — grupa II kontrolna (ryc. 19). W obu grupach doświadczalnych (I i II) w początkowym okresie działania CCl_4 nie obserwowano zmian w intensywności reakcji na G-6-P-azę. Po 20 min. działania CCl_4 u szczurów indukowanych fenobarbitem stwierdzono wyraźne obniżenie intensywności odczynu na G-6-P-azę w strefie centralnej zrazika (ryc. 20). Natomiast w grupie I doświadczalnej nieznaczne obniżenie intensywności odczynu w hepatocytach strefy centralnej zrazika zauważono po 30 min. działania CCl_4 (ryc. 16). W miarę upływu czasu działania CCl_4 w obu grupach doświadczalnych (I i II) po 1, 2, 4 i 6 godz. intensywność odczynu na G-6-P-azę wyraźnie zmniejszała się w strefie centralnej zrazika, aż do zupełnego jej zniknięcia (ryc. 17 i 21). Jednak obniżenie intensywności reakcji na G-6-P-azę było bardziej nasilone w grupie zwierząt uprzednio indukowanych fenobarbitem i obejmowało swym zasięgiem również strefę pośrednią zrazika wątrobowego.

Po 6 godz. działania CCl_4 w dawce letalnej (0,5 ml/100 g c.c.) obserwowano całkowicie ujemny odczyn na G-6-P-azę w strefie centralnej zrazika (ryc. 18), natomiast u zwierząt indukowanych fenobarbitem po tej samej dawce CCl_4 i po tym samym czasie działania CCl_4 tylko nieliczne hepatocyty strefy brzeżnej zrazika wykazały intensywnie dodatni odczyn na G-6-P-azę (ryc. 22).

DYSKUSJA

Przedstawione wyniki badań wskazują, że indukcja fenobarbitem układu enzymów metabolizujących leki w wątrobie zwiększa efekty hepatotoksyczne CCl_4 . Nasze spostrzeżenie jest zgodne z wcześniejszymi doniesieniami innych autorów (4, 6, 10).

Najwcześniejsze zmiany morfologiczne, ujawniające się w barwieniu H + E, to postępujące zmniejszanie się liczby ziarnistości zasadochłonnych w cytoplazmie hepatocytów, co może być wykładnikiem znacznego obniżenia zawartości polirybosomów, rybosomów i ziarnistej siateczki śródplazmatycznej (RER)

w hepatocytach. W dalszej kolejności czasowej pojawiały się oznaki stłuszczenia, zwyrodnienia kwasochłonnego i wodniczkowego, a także martwica skrzepowa, rzadziej rozplywna, hepatocytów. W obu grupach doświadczalnych (I i II) obserwowano najwcześniej pojawienie się zmian w strefie centralnej zrazików, a w miarę upływu czasu działania CCl_4 zmiany te stopniowo obejmowały strefę pośrednią i brzeżną zrazika. Ta strefowa lokalizacja zmian, wielokrotnie podkreślana w piśmiennictwie (3, 4, 5, 10), udowodniona także w naszych badaniach submikroskopowych (część II), świadczy o zróżnicowanej biotransformacji CCl_4 , spowodowanej nierównomiernym rozdzieleniem cytochromu P-450 (11) między hepatocyty poszczególnych stref zrazika wątrobowego. Szybsze pojawienie się zmian zwyrodnieniowych i martwiczych w hepatocytach sąsiadujących z większymi odgałęzieniami żyły wątrobowej (żyłami podzrazikowymi), obserwowane po 4 godz. działania CCl_4 w grupie zwierząt indukowanych fenobarbitem, jest prawdopodobnie wynikiem większego stężenia metabolitów CCl_4 w ich sąsiedztwie. W naszych badaniach stłuszczenie hepatocytów najwcześniej obserwowano w strefie centralnej zrazika po 1 godz. działania CCl_4 na wątrobę indukowaną fenobarbitem i po 2 godz. działania samego CCl_4 . Jest to zgodne z naszymi wynikami ultrastrukturalnymi (część II). Akumulacja tłuszczów w hepatocytach może być spowodowana obniżeniem syntezy lipoproteidów odpowiedzialnych za uwalnianie lipidów z komórki, ponieważ zmiana ta pojawiła się po wcześniej stwierdzonych, zaawansowanych uszkodzeniach RER. Farber (7) uważa, że zaburzona synteza białek i znacznie podwyższony poziom trójglicerydów w wątrobie prowadzi do uszkodzenia mitochondriów i zaburzeń w oksydatywnej fosforylacji, natomiast Gohbierg (8) jest zdania, że stłuszczenie wątroby u szczurów po CCl_4 wynika z wcześniejszego zaburzenia procesów utleniania w obrzmiałych mitochondriach.

W naszych badaniach histochemicznych wykazaliśmy najwcześniej zmiany w aktywności glukozy-6-fosfatazy (G-6-P-azy). Obniżenie odczynu na G-6-P-azę występowało równoległe z degranulacją RER (część II). W grupie zwierząt po fenobarbitalu i CCl_4 aktywność G-6-P-azy była wyraźnie obniżona już po 30 min. działania CCl_4 . Po 6 godz., gdy zmiany martwicze były ewidentne, odczyn na ten enzym był silnie zaznaczony tylko w hepatocytach strefy brzeżnej.

W badaniach *in vivo* i *in vitro* (4, 5, 10, 15, 16) wykazano, że CCl_4 powoduje w wątrobie zmiany w aktywności G-6-P-azy, enzymu związanego z siateczką śródplazmatyczną, niezależnie od wielkości dawki CCl_4 oraz drogi podania jej zwierzętom. Chopra i wsp. (4) twierdzą, że obniżenie G-6-P-azy jest jednym z wcześniejszych wykładników uszkodzenia wątroby przez CCl_4 , poprzedzającym zwyrodnienie tłuszczowe i martwicę hepatocytów. Nayak i wsp. (10) są zdania, że początkowy ubytek G-6-P-azy jest wskaźnikiem peroksydacji lipidów strukturalnych wywołanych przez CCl_4 . Podobną zależność w systemie *in vitro* wykazał Recknagel i wsp. (15). Cignoli i Castro (5) są przeciwnego zdania i uważają, że peroksydacja lipidów strukturalnych nie ma żadnego wpływu na

spadek aktywności G-6-P-azy, a wolne rodniki, bezpośrednio działające na siateczkę śródplazmatyczną, obniżają przez to jej aktywność. Natomiast my przypuszczamy, że odczyn na G-6-P-azę ulega względnemu obniżeniu na skutek syntezy w siateczce śródplazmatycznej nowego dla jej enzymów układu MFO.

Nasze badania histochemiczne na glikogen w obu grupach doświadczalnych (I i II) wykazały stopniowe zmniejszanie się zawartości glikogenu w poszczególnych strefach zrazików wątrobowych w miarę przedłużania się czasu działania CCl_4 na hepatocyt. Zmniejszenie ilości glikogenu po 2 godz. działania samego CCl_4 na wątrobę i po 1 godz. działania CCl_4 na wątrobę indukowaną fenobarbitem, a więc równoległe z pojawieniem się zmian w mitochondriach (część II) przemawia za tym, że glikogen jest wykorzystywany w procesach beztlenowej glikolizy, będącej skutkiem zaburzeń oksydatywnej fosforylacji. Inni autorzy stwierdzili również zmniejszenie ilości glikogenu w wątrobie szczurów uszkodzonych CCl_4 (3, 16). Stwierdzone przez nas zmiany aktywności ATP-azy w wątrobie badanych zwierząt były proporcjonalne do ujawniających się zmian zwyrodnieniowych i martwiczych, przy czym obniżenie intensywności odczynu na ten enzym było bardziej nasilone w grupie II doświadczalnej. Biorąc pod uwagę fakt, że ATP-aza należy do grupy enzymów związanych z procesami aktywnego transportu przez błony biologiczne, otrzymane przez nas wyniki należy interpretować jako wykładnik jego upośledzenia. Obserwowane wcześniej zmiany w mitochondriach (część II) sugerują, że czynność tego enzymu jest uzależniona od energii produkowanej w mitochondriach, a więc obniżenie intensywności odczynu na ATP-azę jest wtórną konsekwencją zaburzeń funkcji mitochondrialnych enzymów oksydoredukcyjnych. Podobne zmiany w zachowaniu się aktywności ATP-azy w hepatocytach po CCl_4 obserwowali inni autorzy (3, 16).

Sumując powyższe rozważania i konfrontując je z uzyskanymi wynikami w naszym doświadczeniu, sądzimy, że fenobarbital poprzez indukcję układu enzymatycznego wątroby, metabolizującego leki i inne substancje chemiczne, potęguje hepatotoksyczność CCl_4 .

Wnioski

1. Fenobarbital powoduje wcześniejsze i intensywniejsze wystąpienie zmian morfologicznych i enzymatycznych, co przemawia za tym, że za toksyczne działania CCl_4 jest odpowiedzialny wolny rodnik $\cdot\text{CCl}_3$.

2. Charakter zmian morfologicznych i histochemicznych pod wpływem toksycznego działania CCl_4 w obu grupach doświadczalnych jest podobny.

3. Najwcześniejsze morfologiczne wykładniki uszkodzenia hepatocytów, spadek aktywności enzymów na G-6-P-azę i ATP-azę oraz zmniejszenie ilości glikogenu występują w strefie centralnej zrazika, a w miarę przedłużania się czasu działania CCl_4 zmiany te obejmują także strefę pośrednią i brzeżną.

4. Obniżenie intensywności odczynu na G-6-P-azę przemawia za adaptacją siateczki śródplazmatycznej do procesów detoksykacji CCl_4 .

5. Spadek aktywności ATP-azy świadczy o zaburzonym procesie aktywnego transportu przez błony komórkowe.

6. Zmniejszenie ilości glikogenu, zsynchronizowane z postępującym stłuszczeniem hepatocytów, świadczy o wykorzystaniu glikogenu w procesach bez-tlenowej glikolizy, nasilającej się wskutek zaburzeń oksydatywnej fosforylacji.

PIŚMIENNICTWO

1. Bartłomowicz B.: Wątrobowy cytochrom P-450. *Post. Biochem.* **32**, 459, 1986.
2. Bini A. i wsp.: Morphological Changes and Free Radical Rate in Early Hepatic Injury from Carbon Tetrachloride and Monobromotrichloromethane. *J. Submicr. Cytol.* **10**, 215, 1978.
3. Bonaszewska T. I.: Morfologiczeskaja charakteristika prociessow adaptacji pieczeni k wozdiejstwiu niekotorych chimiczeskich wieszczestw. *Gig. i Sanit.* **4**, 45, 1977.
4. Chopra M. D. i wsp.: Mechanism of Carbon Tetrachloride Hepatotoxicity. A *in vivo* Study of Its Molecular Basis in Rats and Monkeys. *Lab. Invest.* **26**, 716, 1972.
5. Cignoli E. V., Castro J. A.: Lipid Peroxidation, Necrosis and the *in vivo* Depression of Liver Glucose 6-Phosphatase by Carbon Tetrachloride. *Exp. Mol. Pathol.* **14**, 43, 1971.
6. Czarnecki J.: Badania doświadczalne nad interakcją leków i indukcją enzymatyczną wątroby zdrowych szczurów i szczurów po przewlekłym zatruciu 4-chlorkiem węgla. Rozprawa habilitacyjna. Lublin 1978.
7. Farber J. L., El-Mofty S. K.: The Biochemical Pathology of Liver Cell Necrosis. *Amer. J. Pathol.* **81**, 237, 1975.
8. Gohbięrg S. Ł. i wsp.: Wlijanije niekotorych ekstriemalnych wozdiejstwiu na submikroskopiceskuję organizację pieczeni krysu pri otrawleniu czetyriechloristym uglerodom. *Biull. Eksp. Biol. Med.* **10**, 498, 1978.
9. Kanclerz A., Zbytniewski Z.: Wolne rodniki w fizjologii i patologii organizmu. *Post. Hig. Med. Dośw.* **32**, 177, 1978.
10. Nayak N. C. i wsp.: Diverse Mechanism of Hepatocellular Injuries Due to Chemicals: Evidence in Rats Administered Carbon Tetrachloride or Dimethylnitrosamine. *Br. J. Exp. Pathol.* **56**, 103, 1975.
11. Panin L. E., Usynin I. F.: Indukcja cytochromów P-450 i b_5 w subpopulacjach hepatocytów fenobarbitalom. *Biull. Eksp. Biol. Med.* **6**, 695, 1986.
12. Pesh-Imam M., Recknagel R. O.: Lipid Peroxydation and the Concept of Antioxygenic Potential: Vitamin E Changes in Acute Experimental CCl_4 -, BrCCl_3 -, and Ethanol-induced Liver Injury. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **42**, 463, 1977.
13. Pużyńska L.: Zależność między stanem odżywienia a przemianą leków u człowieka. *Pol. Tyg. Lek.* **35**, 1387, 1978.
14. Recknagel R. O. i wsp.: New Perspectives in the Study of Experimental Carbon Tetrachloride. *The Liver*, Baltimore 1973, 8, 150.
15. Recknagel R. O. i wsp.: Absolute Dependence of CCl_4 Induced Loss of Glucose-6-phosphatase and Cytochrome P-450 on Lipid Peroxydation. *Panminerva Med.* **18**, 376, 1976.
16. Trinus F. P. i wsp.: Eksperymentalno-morfologiczeskoje izuczenije wlijanija liposom pri intoksikacyi CCl_4 . *Biull. Eksp. Biol. Med.* **12**, 714, 1985.
17. Weddle Ch. C. i wsp.: Lipid Peroxidation and Alteration of Membrane Lipids in Isolated Hepatocytes Exposed to Carbon Tetrachloride. *J. Biol. Chem.* **251**, 4973, 1976.

Otrzymano 1988.10.28.

OBJAŚNIENIA RYCIN

BARWIENIE H + E:

Ryc. 1. Wątroba szczura grupy I doświadczalnej po 6 godz. działania CCl_4 . Pow. ok. $128 \times$.

Ryc. 2. Wątroba szczura grupy II doświadczalnej po 6 godz. działania CCl_4 . Pow. ok. $128 \times$.

TLUSZCZE OCENIANE METODĄ FLUORESCENCYJNĄ WEDŁUG BERGA:

Ryc. 3. Wątroba szczura grupy I doświadczalnej po 4 godz. działania CCl_4 . Pow. ok. $224 \times$.

Ryc. 4. Wątroba szczura grupy II doświadczalnej po 4 godz. działania CCl_4 . Pow. ok. $224 \times$.

GLIKOGEN W REAKCJI PAS:

Ryc. 5. Wątroba szczura grupy I doświadczalnej po 2 godz. działania CCl_4 . Pow. ok. $150 \times$.

Ryc. 6. Wątroba szczura grupy II doświadczalnej po 2 godz. działania CCl_4 na wątrobę indukowaną fenobarbitem. Pow. ok. $150 \times$.

ODCZYN NA ATP-azę:

Ryc. 7. Wątroba szczura grupy I kontrolnej. Pow. ok. $150 \times$.

Ryc. 8. Wątroba szczura grupy I doświadczalnej po 30 min. działania CCl_4 . Pow. ok. $150 \times$.

Ryc. 9. Wątroba szczura grupy I doświadczalnej po 2 godz. działania CCl_4 . Pow. ok. $150 \times$.

Ryc. 10. Wątroba szczura grupy I doświadczalnej po 6 godz. działania CCl_4 . Pow. ok. $150 \times$.

Ryc. 11. Wątroba szczura grupy II kontrolnej po indukcji fenobarbitem. Pow. ok. $150 \times$.

Ryc. 12. Wątroba szczura grupy II doświadczalnej po 20 min. działania CCl_4 na wątrobę indukowaną fenobarbitem. Pow. ok. $150 \times$.

Ryc. 13. Wątroba szczura grupy II doświadczalnej po 2 godz. działania CCl_4 na wątrobę indukowaną fenobarbitem. Pow. ok. $150 \times$.

Ryc. 14. Wątroba szczura grupy II doświadczalnej po 4 godz. działania CCl_4 na wątrobę indukowaną fenobarbitem. Pow. ok. $150 \times$.

ODCZYN NA G-6-P-azę:

Ryc. 15. Wątroba szczura grupy I kontrolnej. Pow. ok. $80 \times$.

Ryc. 16. Wątroba szczura grupy I doświadczalnej po 30 min. działania CCl_4 . Pow. ok. $63 \times$.

Ryc. 17. Wątroba szczura grupy I doświadczalnej po 6 godz. działania CCl_4 . Pow. ok. $80 \times$.

Ryc. 18. Wątroba szczura po 6 godz. działania CCl_4 w dawce letalnej (0,5 ml/100 g c.c.). Pow. ok. $80 \times$.

Ryc. 19. Wątroba szczura grupy II kontrolnej po indukcji fenobarbitem. Pow. ok. $80 \times$.

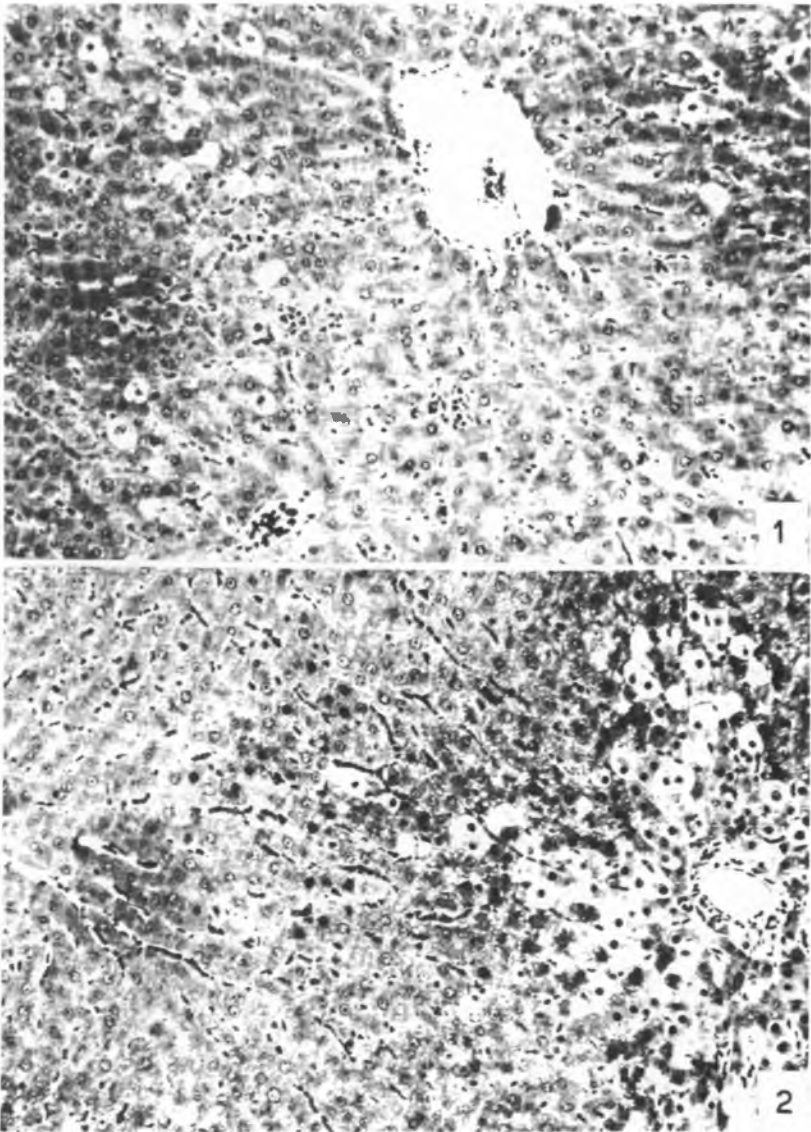
Ryc. 20. Wątroba szczura grupy II doświadczalnej po 20 min. działania CCl_4 na wątrobę indukowaną fenobarbitem. Pow. ok. $63 \times$.

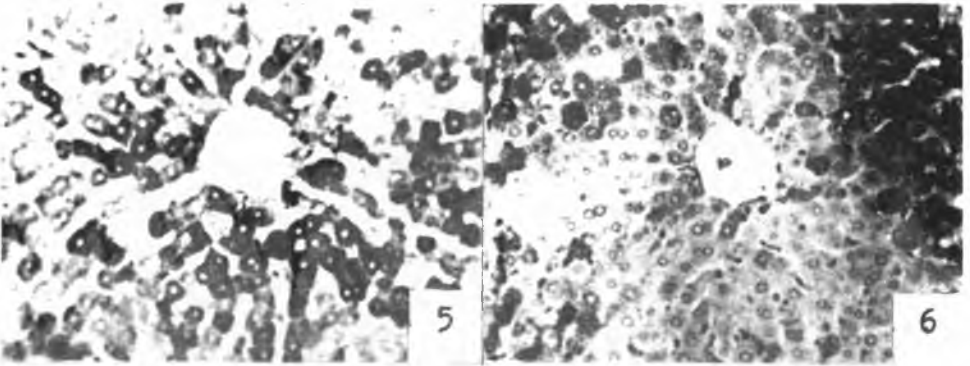
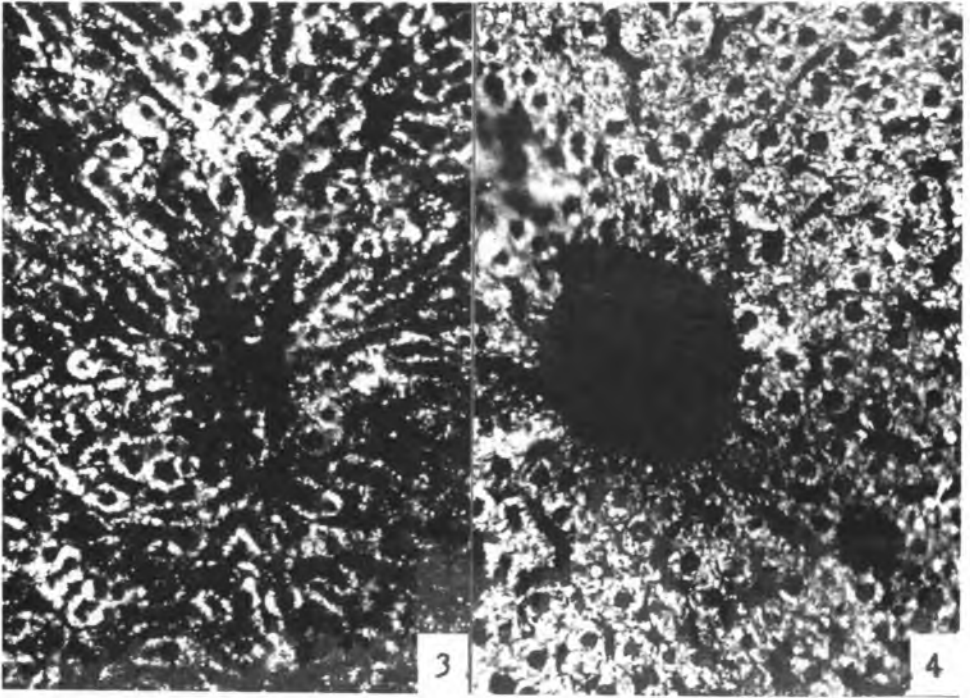
Ryc. 21. Wątroba szczura grupy II doświadczalnej po 6 godz. działania CCl_4 na wątrobę indukowaną fenobarbitem. Pow. ok. $80 \times$.

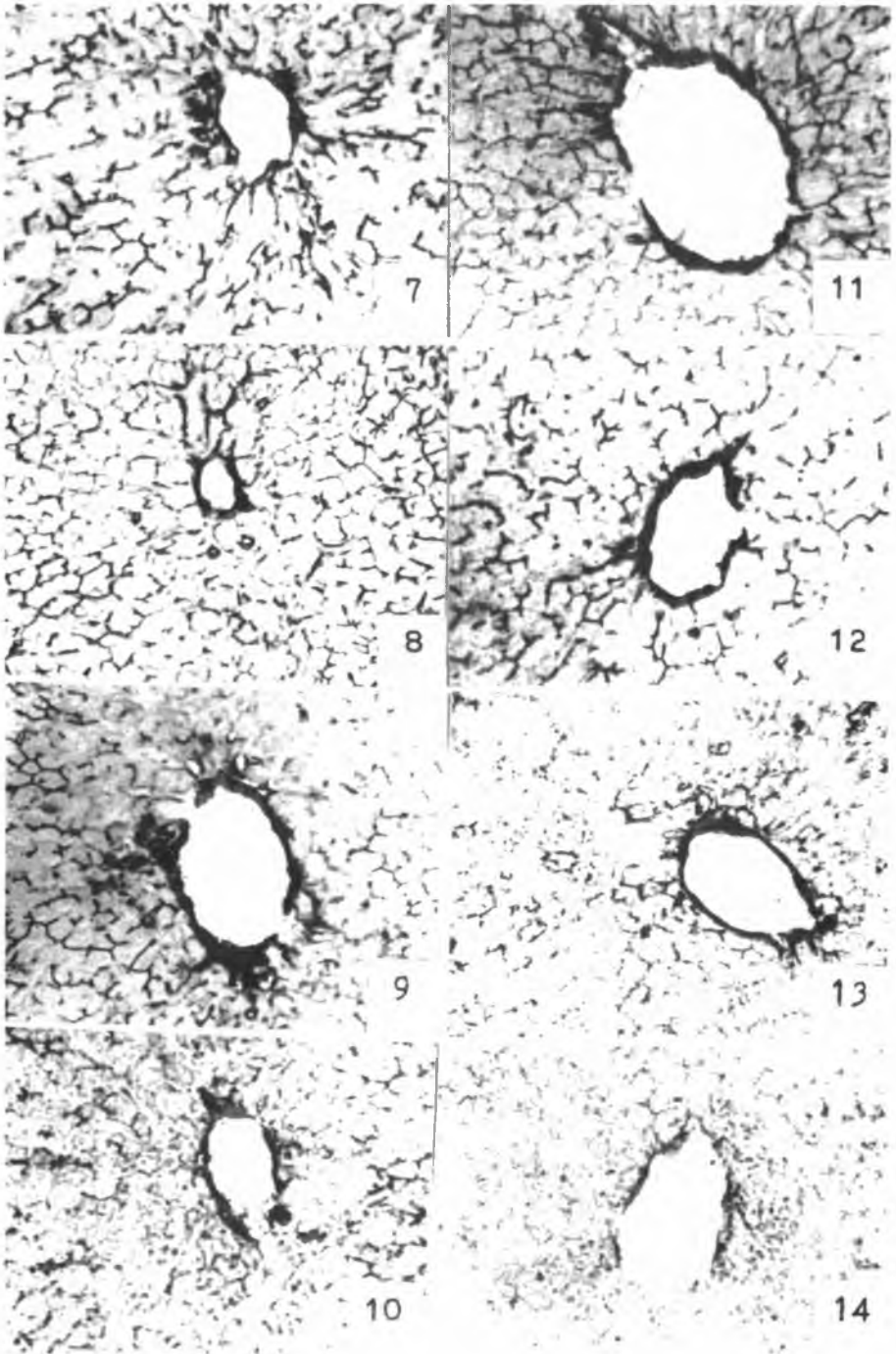
Ryc. 22. Wątroba szczura po 6 godz. działania CCl_4 w dawce letalnej (0,5 ml/100 g c.c.) na wątrobę indukowaną fenobarbitem. Pow. ok. $80 \times$.

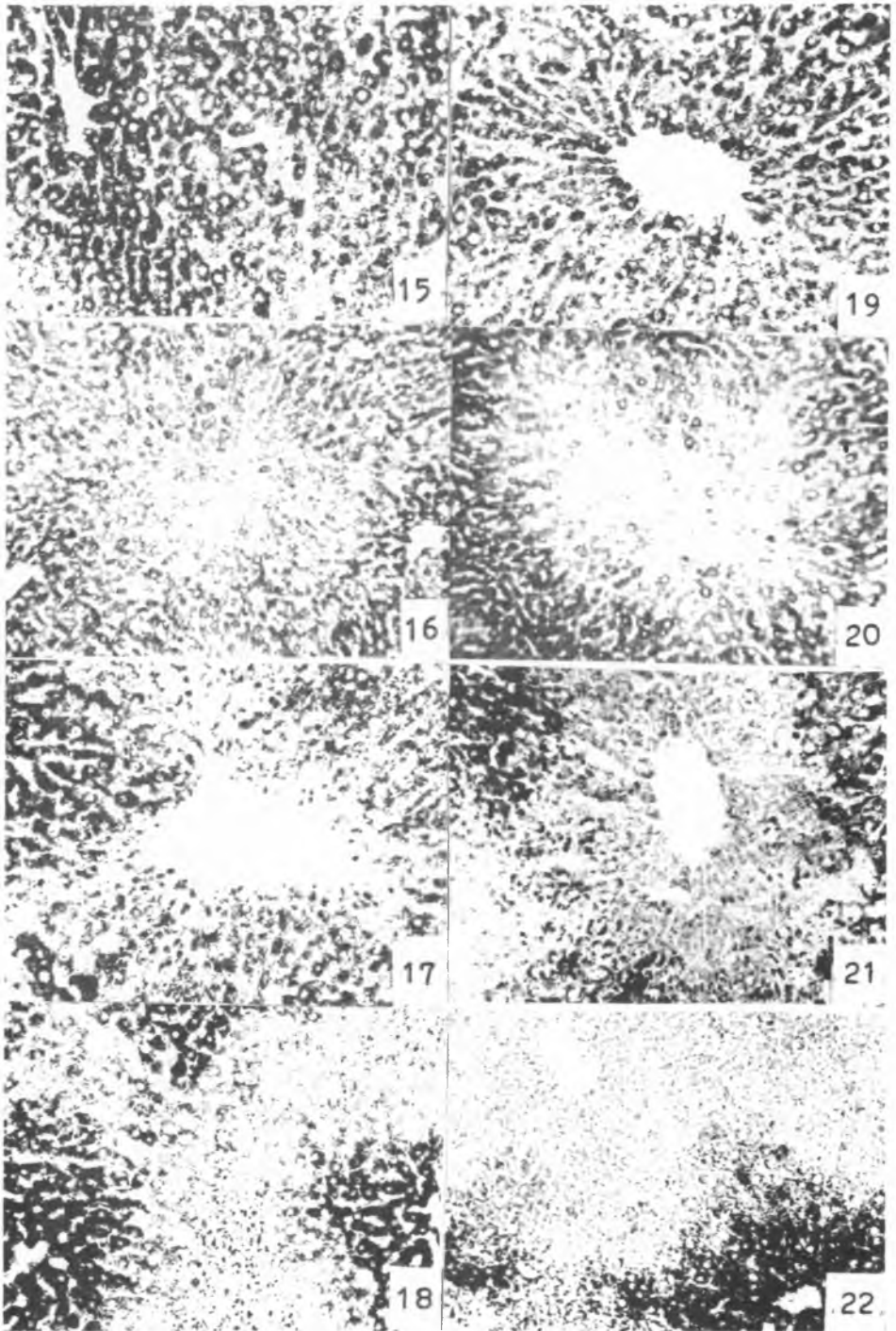
РЕЗЮМЕ

Исследовано влияние Фенобарбитала на морфологические и гистохимические изменения заходящие в печени крыс подданных действию CCl_4 . Крысы-самцы штамма Вистар получали Фенобарбитал брюшинно в дозе 10 мг/100 г в.т. в течение 5 очередных дней. Одну дозу CCl_4 (0,1 мл/100 г в.т.) подано в желудок вместе с парафиновым маслом. В исследованиях применено методы: H + E, гистохимические на присутствие жира и гликогена, а также реакции на G-6-P-азу и ATP-азу. На основе полученных результатов









Janina Tryksza, Barbara Pawłowska-Wakowicz, Zofia Siezieniewska, Daniel Chibowski

определено, что у крыс индуцированных Фенобарбиталом морфологические и гистохимические изменения появляются очень рано и бывают более интенсивные по сравнению с изменениями замеченными у крыс, которые получали только CCl_4 .

SUMMARY

The effect of phenobarbital on the behaviour of morphological and histochemical changes in rat's liver subjected to the action of CCl_4 was studied. Male rats of Wistar strain were administered phenobarbital intraperitoneally in dose 10 mg/100 g of body weight for five successive days. A single dose of CCl_4 , 0,1 ml/100 g of body weight was administered intragastrically in paraffin oil. In the investigations the following methods have been applied: H + E, histochemical methods for the presence of fat and glycogen and reactions to G-6-P-ase and ATP-ase. On the basis of obtained results it was found that in rats induced with phenobarbital morphological and histochemical changes occur earlier and are more intensive than those observed in rats which were administered the very CCl_4 .

EXPLANATION TO FIGURES

STAINING WITH H + E:

Fig. 1. Rat's liver of Ist experimental group after 6 hrs action of CCl_4 . Magn. ca 128 ×.

Fig. 2. Rat's liver of IIInd experimental group after 6 hrs action of CCl_4 . Magn. ca 128 ×.

FAT EVALUATED ACC. TO BERG'S FLUORESCENCE METHOD:

Fig. 3. Rat's liver of Ist experimental group after 4 hrs action of CCl_4 . Magn. ca 224 ×.

Fig. 4. Rat's liver of IIInd experimental group after 4 hrs action of CCl_4 . Magn. ca 224 ×.

GLYCOGEN IN PAS REACTION:

Fig. 5. Rat's liver of Ist experimental group after 2 hrs action of CCl_4 . Magn. ca 150 ×.

Fig. 6. Rat's liver of IIInd experimental group after 2 hrs action of CCl_4 on liver induced with phenobarbital. Magn. ca 150 ×.

REACTION TO ATP-ase:

Fig. 7. Rat's liver of Ist control group. Magn. ca 150 ×.

Fig. 8. Rat's liver of Ist experimental group after 30 min action of CCl_4 . Magn. ca 150 ×.

Fig. 9. Rat's liver of Ist experimental group after 2 hrs action of CCl_4 . Magn. ca 150 ×.

Fig. 10. Rat's liver of Ist experimental group after 6 hrs action of CCl_4 . Magn. ca 150 ×.

Fig. 11. Rat's liver of IIInd control group after induction with phenobarbital. Magn. ca 150 ×.

Fig. 12. Rat's liver of IIInd experimental group after 20 min action of CCl_4 on liver induced with phenobarbital. Magn. ca 150 ×.

Fig. 13. Rat's liver of IIInd experimental group after 2 hrs action of CCl_4 on liver induced with phenobarbital. Magn. ca 150 ×.

Fig. 14. Rat's liver of IIInd experimental group after 4 hrs action of CCl_4 on liver induced with phenobarbital. Magn. ca 150 ×.

REACTION TO G-6-P-ase:

Fig. 15. Rat's liver of Ist control group. Magn. ca 80 ×.

Fig. 16. Rat's liver of Ist experimental group after 30 min action of CCl_4 . Magn. ca 63 ×.

Fig. 17. Rat's liver of Ist experimental group after 6 hrs action of CCl_4 . Magn. ca 80 ×.

Fig. 18. Rat's liver after 6 hrs action of CCl_4 in lethal dose (0,5 ml/100 g of body weight). Magn. ca 80 ×.

Fig. 19. Rat's liver of IInd control group after induction with phenobarbital. Magn. ca 80 ×.

Fig. 20. Rat's liver of IInd experimental group after 20 min action of CCl₄ on liver induced with phenobarbital. Magn. ca 63 ×.

Fig. 21. Rat's liver of IInd experimental group after 6 hrs action on liver induced with phenobarbital. Magn. ca 80 ×.

Fig. 22. Rat's liver after 6 hrs action of CCl₄ in lethal dose (0.5 ml/100 g of body weight) on liver induced with phenobarbital. Magn. ca 80 ×.