

Katedra Histologii i Embriologii. Pracownia Mikroskopii Elektronowej. Wydział Lekarski.  
Akademia Medyczna w Lublinie

Kierownik: prof. dr med. Stanisław Grzycki

Katedra i Zakład Radiologii. Wydział Lekarski. Akademia Medyczna w Lublinie

Kierownik: doc. dr med. Stanisław Bryc

Maciej LATALSKI i Stanisław BRYC

### Ultrastruktura komórek wątrobowych po badaniu kontrastowym jelit grubych z dodatkiem kwasu taninowego

Ультраструктура клеток печени после контрастных исследований толстой кишки с добавлением галлодубильной кислоты

Ultrastructure of the Hepatic Cells after the Contrast Examination of the Colon with Addition of Tannic Acid

Kwas taninowy znalazł od 1946 r. szerokie zastosowanie w rentgenodiagnostyce schorzeń jelita grubego (3). Stosowano go jako dodatek do zawiesiny barytowej, a nierzadko także do wlewów czyszczących przed badaniem rtg (11). Przyczynia się on do szybkiego opróżniania jelit z zaległości pokarmowych, wytrąca mucyny, zmniejsza ich wydzielanie prowadząc do oczyszczenia powierzchni śluzówki. Można wówczas we wlewie barytowym dokładnie uwidocznić rzeźbę błony śluzowej i rozpoznać nawet drobne polipy i owrzodzenia (10).

Celem pracy było ustalenie charakteru zmian ultrastrukturalnych komórek wątrobowych po badaniu rtg jelit z dodatkiem kwasu taninowego do zawiesiny barytowej.

#### MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Obserwacje przeprowadzono na 21 szczurach białych, samcach, ciężaru 150 — 180 g., hodowli własnej. Wśród zwierząt wyodrębniono grupę kontrolną składającą się z 3 szczurów. Podano im doodbytniczo roztwór soli fizjologicznej. Zwierzęta doświadczalne podzielono na dwie grupy po 9 sztuk w każdej. W I grupie doświadczalnej stężenie kwasu taninowego we wlewie barytowym wynosiło 0,5%, zaś w grupie II — 1,5%. Wprowadzono około 5 ml. zawiesiny cieniującej, która zalegała w przewodzie pokarmowym od 1 do kilkunastu minut (ryc. 1). Zarówno zwierzęta kontrolne (po 1 sztuce) jak i doświadczalne (po 3 sztuki) dekapitowano po upływie 1, 3 i 7 dni od czasu wykonania wlewu.

Wycinki obwodowej części prawego płata wątroby utrwalano przez 2 godziny w 6% aldehydzie glutarowym z buforem kakodylowym o pH 7,4. Następnie płukano je w samym buforze, dotrwalano 2 godziny w 1% roztworze kwasu osmowego, odwadniano w alkoholach etylowych o wzrastających stężeniach oraz zamykano w mieszaninie metakrylanów n-butylu i metylu w stosunku 3,5 : 1.

Błoczki polimeryzowano w termostacie w temp. 48°C przez około 20 godzin. Skrawki sporządzano na ultramikrotomie OmU Reichert (Austria), a preparaty oglądano i fotografowano w mikroskopie elektronowym Elmi D2 Zeiss (NRD).

## BADANIA WŁASNE

W grupie kontrolnej ultrastruktura komórek wątrobowych nie odbiegała od ogólnie przyjętej normy. Granice ich były wyraźne, kanaliki żółciowe i przestrzenie Dissego prawidłowe. W cytoplazmie stwierdzono obecność gładkiej siatki śródplazmatycznej, bogato reprezentowaną ergastoplazmę oraz wolno leżące rybosomy, niekiedy skupione w formy polirybosomalne. Mitochondria były liczne, o typowej strukturze wewnętrznej, z macierzą o umiarkowanej gęstości elektronowej. Pojedyncze lizosomy były drobne i lokalizowały się zazwyczaj w obwodowej części cytoplazmy. Jądra komórkowe okrągłe lub owalne, zajmowały położenie centralne w hepatocytach, posiadały prawidłową otoczkę i typową, ziarnistą strukturę (ryc. 2.)

### Grupa doświadczalna I

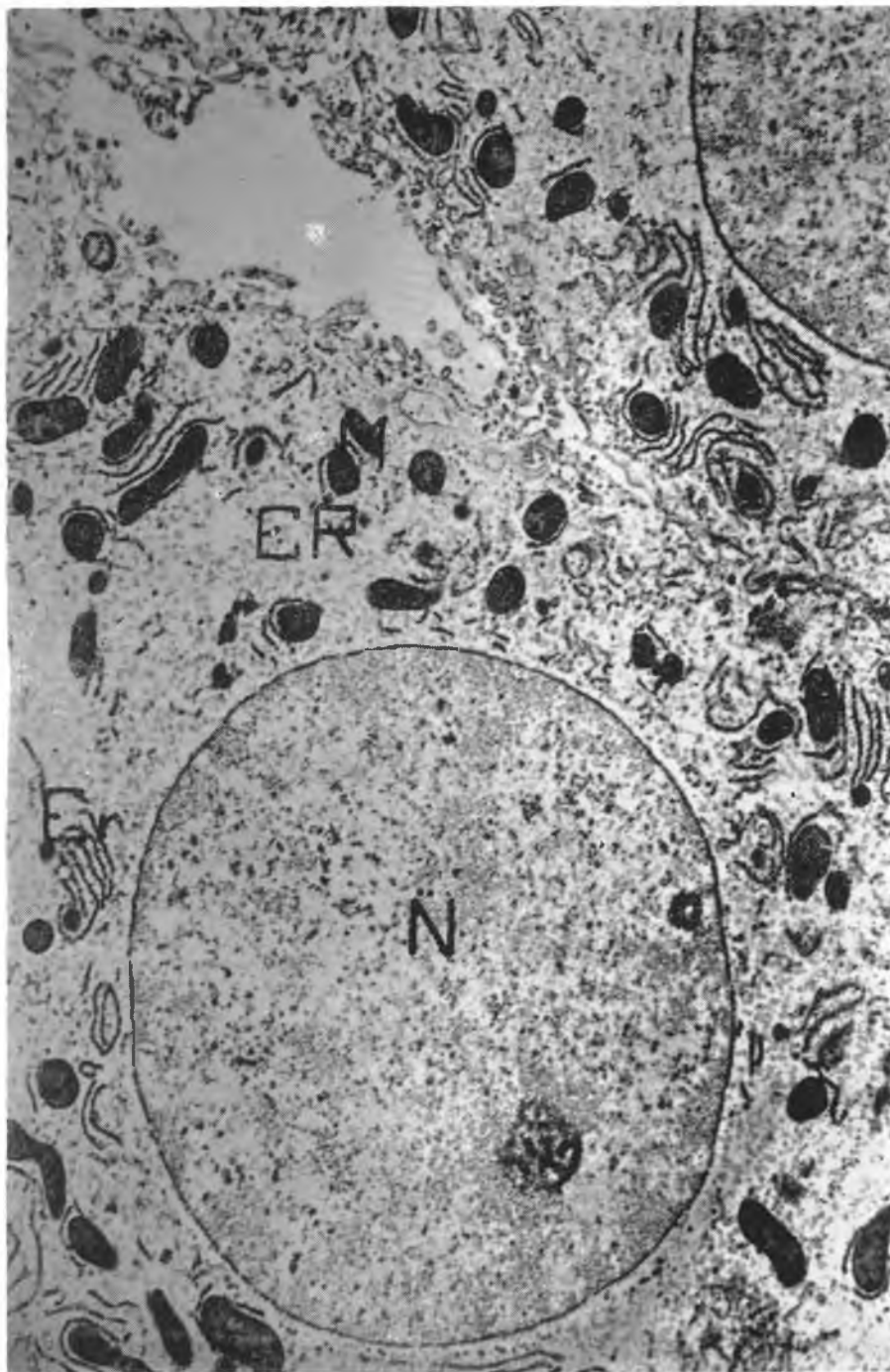
Po 1 dniu obserwowano w obrębie cytoplazmy plackowate opustoszenia, w których widoczna była elektronowo jasna, homogenna cytoplazma podstawowa. Wśród niej występowały przekroje kanalików gładkiej siatki śródplazmatycznej. Opustoszenia te spostrzegano głównie w centralnych rejonach komórki. Zmniejszeniu uległa liczba rybosomów i polirybosomów. Obraz ultrastrukturalny pozostałych elementów komórkowych nie uległ zmianie w odniesieniu do grupy kontrolnej (ryc. 3).

W 3 dni po wlewie na elektronomikrofotogramach spostrzegano dalsze zmniejszenie liczby rybosomów i form ergastoplazmatycznych przy jednoczesnym wzroście liczby kanałów siatki gładkiej. Nie obserwowano polirybosomów. Widoczne w poprzedniej grupie opustoszenia cytoplazmy nie były tu większe, lecz występowały na całym terenie komórki. W obrębie niektórych mitochondriów obserwowano przejaśnienia ich macierzy. Lizosomy były bardziej liczne i spotykano je też w okolicach przyjądrowych, co stanowiło różnicę w porównaniu z obrazami kontrolnymi. Granice komórek i jądra były niezmienione (ryc. 4).

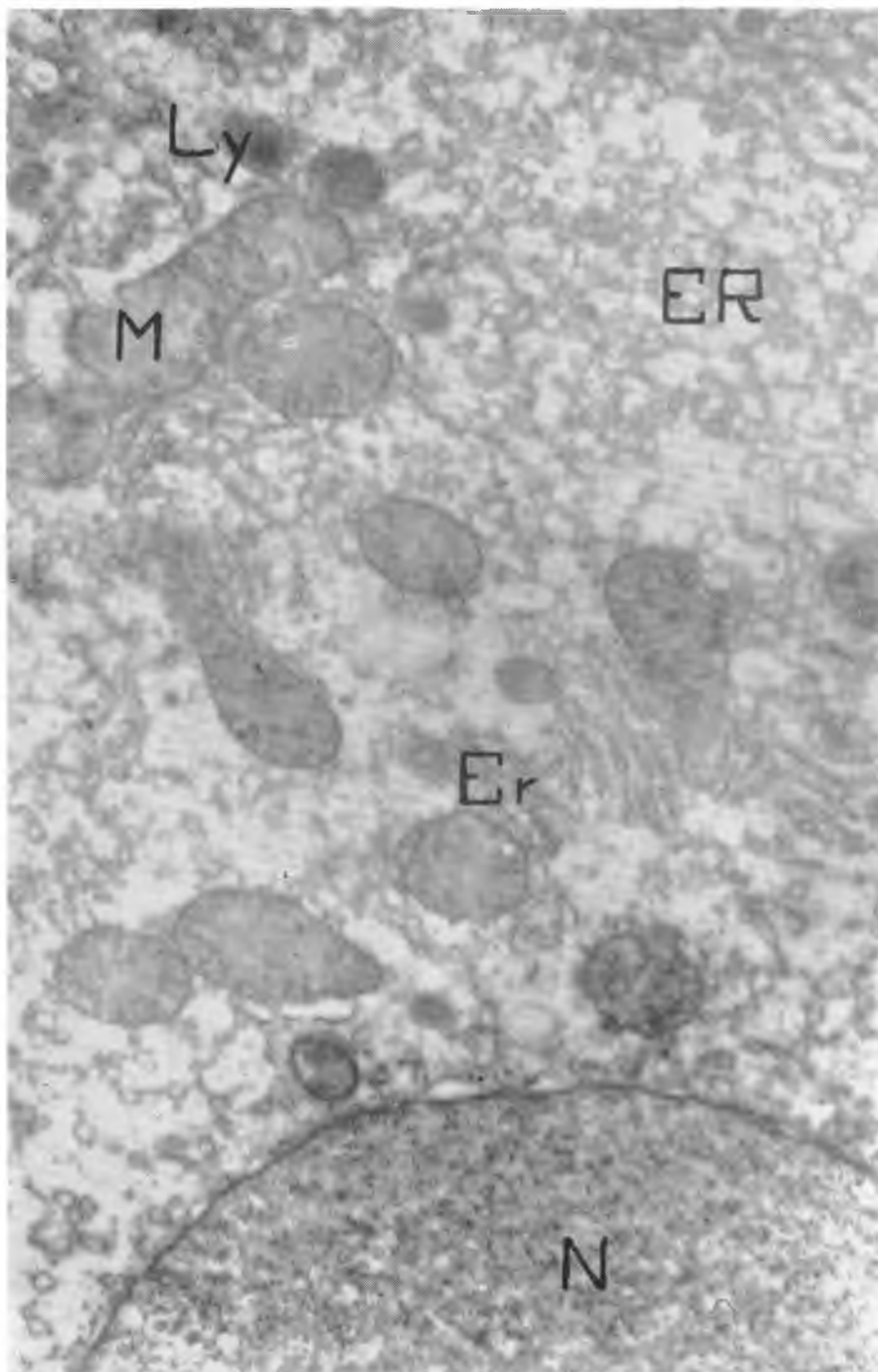
Charakter zmian ultrastruktury hepatocytów badanych w 7 dni po wlewie był podobny do opisanych wyżej, ale bardziej nasilony. Na całym terenie komórki stwierdzono duże opustoszenia cytoplazmy, w których widoczne były nieliczne przekroje gładkiej siatki śródplazmatycznej i pojedyncze krople lipidów. Liczba elementów ergastoplazmatycznych uległa dalszemu zmniejszeniu i w obrębie komórki spotykano tylko pojedyncze formy tego typu, zwykle w pobliżu mitochondriów. Wszystkie mitochondria zachowywały swą otoczkę, jednak część tych organoidów wykazywała zatarcie struktury wewnętrznej. Polirybosomy były niewidoczne (ryc. 5). Jądra komórkowe nie wykazywały w swej budowie uchwytnych odchyień od normy.



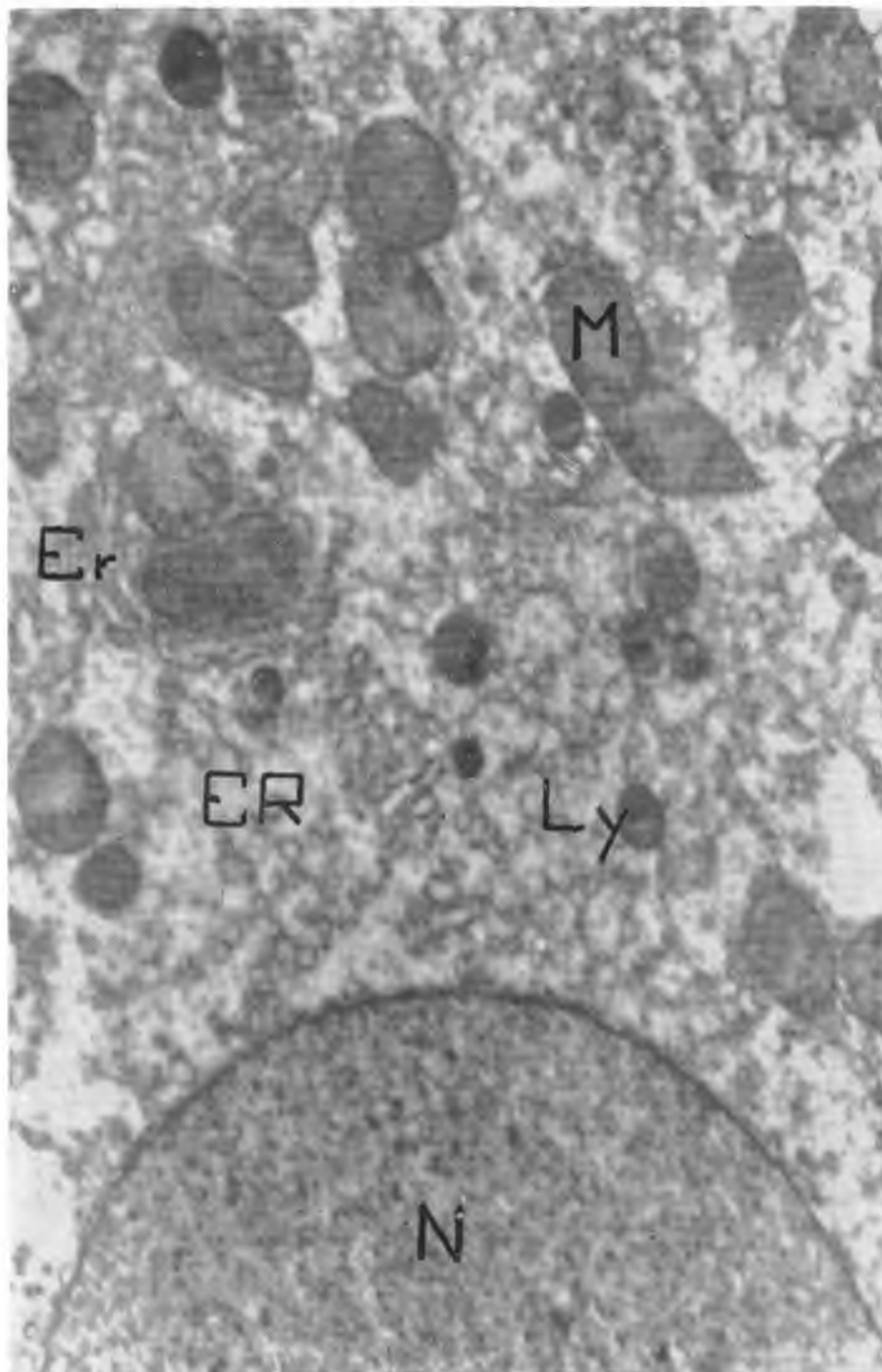
Ryc. 1



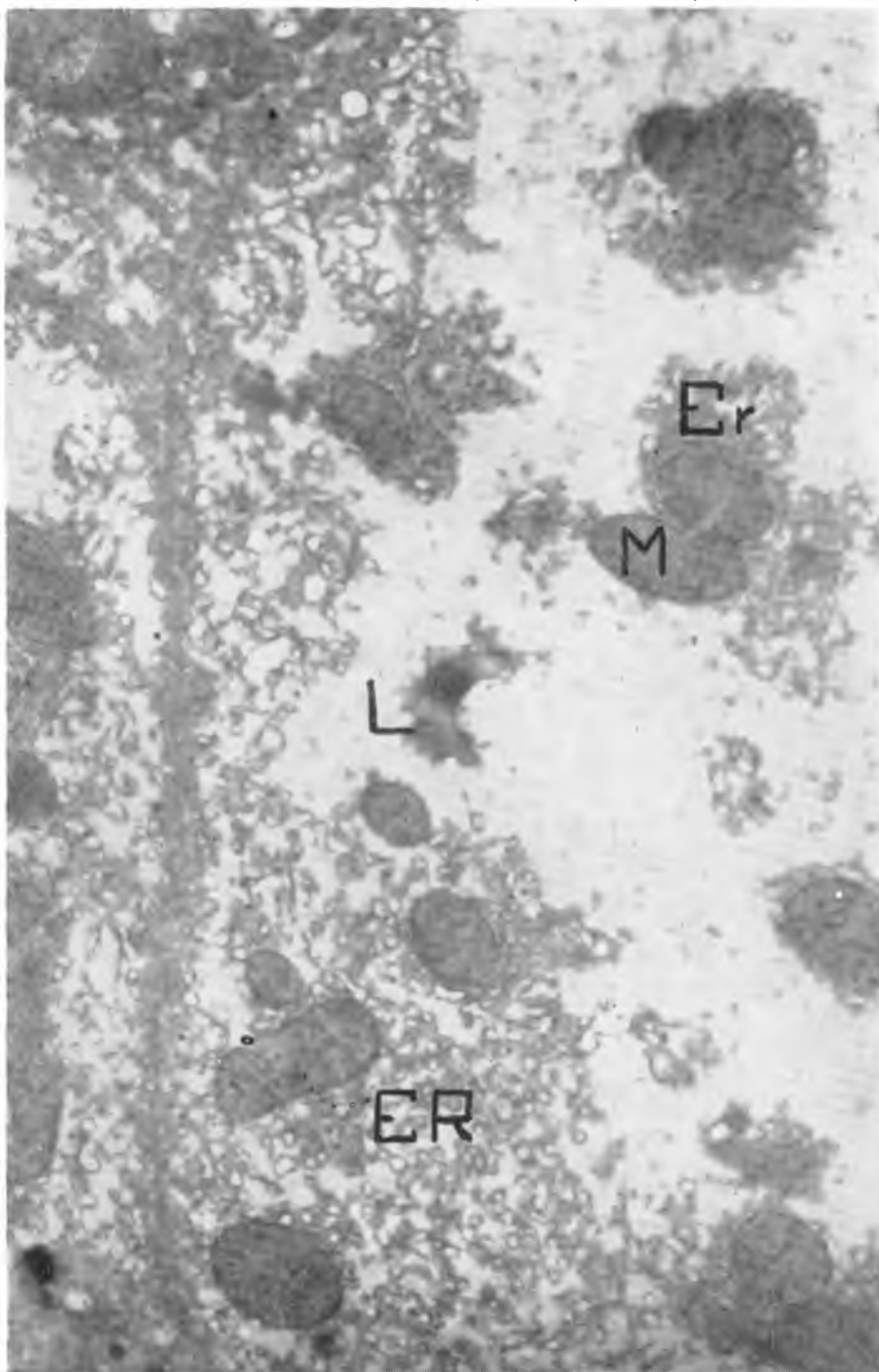
Ryc. 2



Ryc. 3

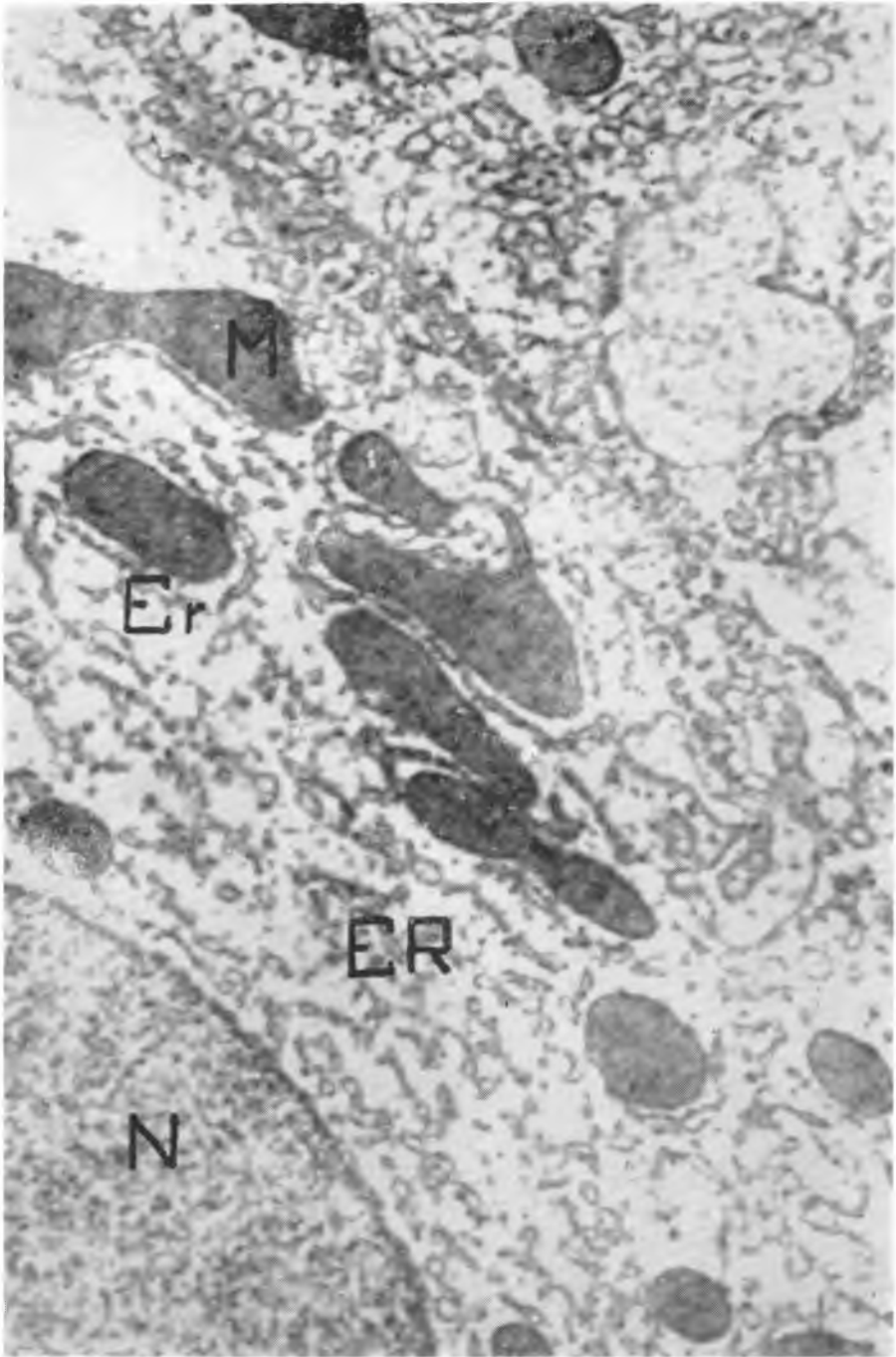


Ryc. 4



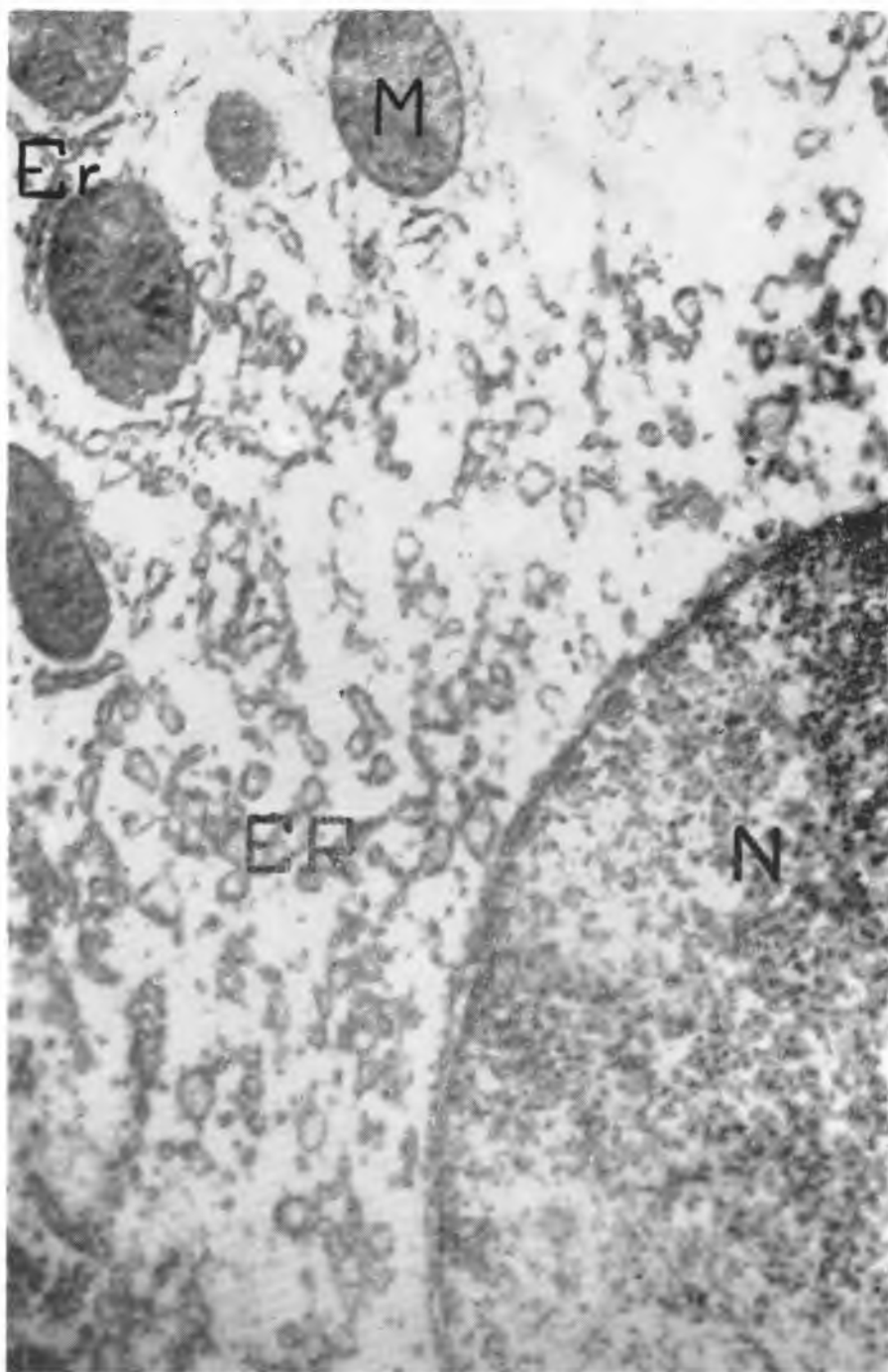
Ryc. 5

Maciej Latański, Stanisław Bryc

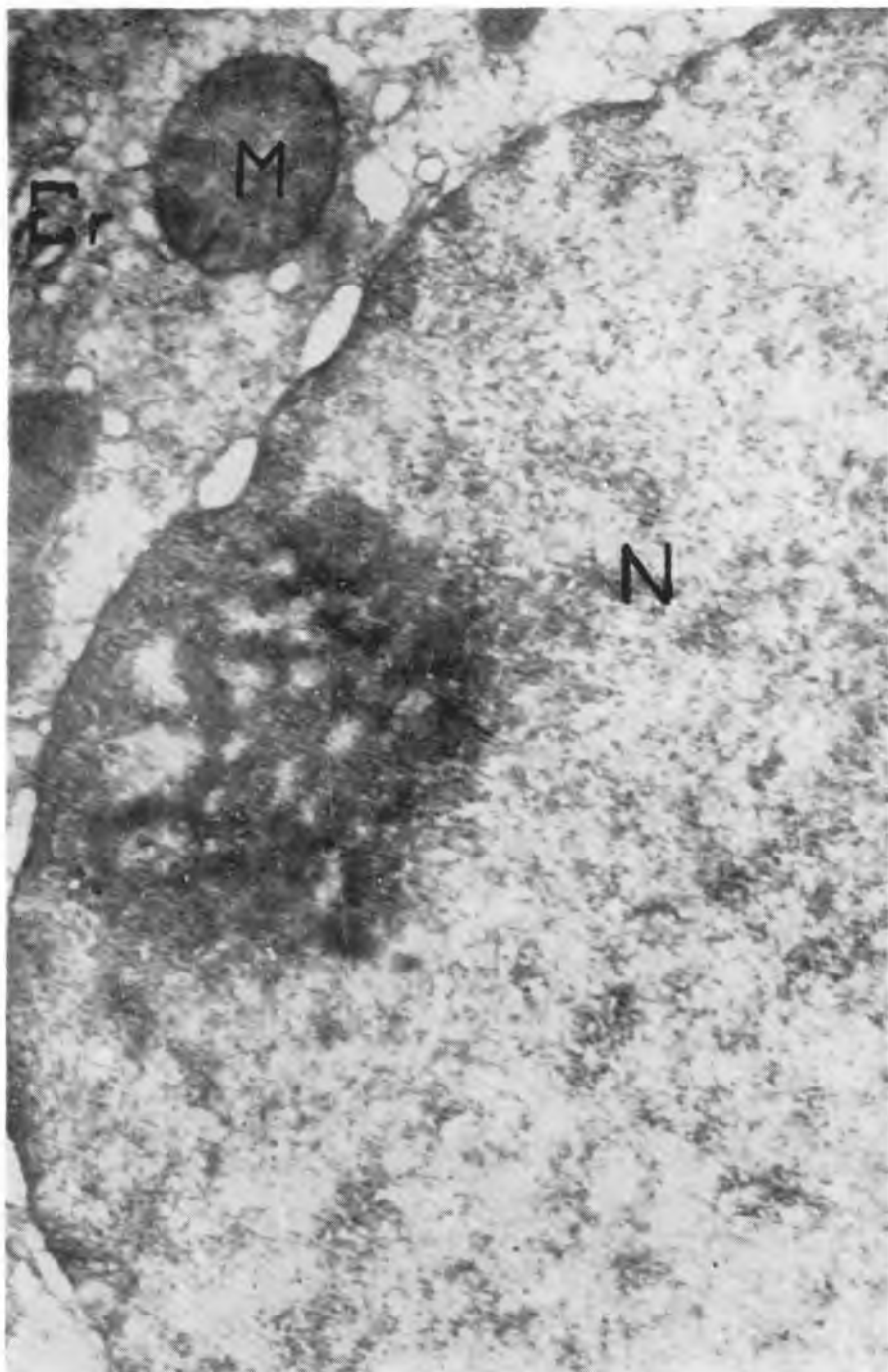


Ryc. 6





Rys. 7



Ryc. 8

## Grupa doświadczalna II

W 1 dzień po badaniu obraz ultrastrukturalny komórek wątrobowych był podobny do obrazów, jakie stwierdzono w 3 dniu po wlewie z 0,5% zawartością kwasu taninowego. Obserwowano nieduże, lecz występujące na całym obszarze komórki opustoszenia cytoplazmy, pojedyncze wolne rybosomy, brak polirybosomów, zmniejszenia liczby struktur ergastoplazmatycznych, łączące się ze zwiększeniem liczby form gładkich siatki śródplazmatycznej (ryc. 6). Większość mitochondriów posiadała zatartą strukturę wewnętrzną.

Zmiany obserwowane w 3 dniu po wlewie z 1,5% stężeniem kwasu taninowego miały z kolei podobny charakter do tych, jakie występowały w 7 dniu u zwierząt w I grupie doświadczalnej, większa jednak była liczba mitochondriów z uszkodzonym układem grzebieni. Ponadto uwagę zwracało niewielkiego stopnia poszerzenie przestrzeni między blaszkami błony jądrowej i równie niewielkie poszerzenie kanałów gładkiej siatki śródplazmatycznej (ryc. 7).

Elektronmikrografy obrazujące ultrastrukturę komórek wątrobowych zwierząt dekapitowanych w 7 dniu w porównaniu z poprzednio opisanymi (3 dzień przy tej samej ilości taniny) wykazywały różnice w stopniu poszerzenia międzyblaszkowej przestrzeni otoczki jąder komórkowych i kanałów gładkiej sieci śródplazmatycznej. Poszerzenie to było bardziej nasilone w komórkach opisywanych obecnie (ryc. 8). Bardziej nasiloną była też dezorganizacja struktury wewnętrznej mitochondriów. W porównaniu z kontrolą pozostał niezmienny wygląd błon komórkowych.

## OMÓWIENIE WYNIKÓW

Staab i Vix (10) stwierdzili toksyczne działanie kwasu taninowego na komórki wątroby, zaś McAlister (6) opisał 3 śmiertelne zatrucia dzieci, którym dokonano badań rtg jelit z użyciem 0,75% stężenia kwasu taninowego. Dzieci te zmarły wkrótce po badaniu i stwierdzono u nich występowanie ognisk martwiczych w wątrobie. Rambo i wsp. (7) wykazywali na szczurach, że zmiany w wątrobie występowały po stosowaniu 8% stężenia kwasu taninowego we wlewie barytowym przy zaleganiu w jelitach środka cieniującego przez okres 1 minuty. U zwierząt, którym przetrzymywano środek cieniujący do 1 godz. podobne zmiany martwicze pojawiały się już po użyciu 2,5% stężenia. Autorzy spostrzegli śródrazikowe ogniska martwicze. Harris i wsp. (4) wykazali, że 3-krotne wlewy z 1 minutowym zaleganiem kontrastu w jelitach dokonywane w odstępach półgodzinnych nie dawały u szczurów po 72 godz. oznak uszkodzenia wątroby przy stężeniu kwasu wynoszącym od 0,25% do 2%. Autorzy ci są zdania, że wchłanianie taniny w jelitach ma miejsce wówczas, gdy uszkodzona jest błona śluzowa. Burhenne i wsp. (1) nie obserwowali zaburzeń funkcji wątroby u chorych, którym stosowano wlewy barytowe z 0,5% stężeniem kwasu taninowego.

Analiza własnych wyników wykazała, że uszkodzenia ultrastruktury komórek wątrobowych spostrzegano już przy użyciu 0,5% stężenia kwasu taninowego. Polegały

one na zmniejszeniu liczby elementów ergastoplazmatycznych, opustoszeniach w obrębie cytoplazmy, zmniejszeniu liczby wolno leżących rybosomów i zanikaniu form polirybosomalnych oraz na uszkodzeniu struktury wewnętrznej mitochondriów. Zmiany te stwierdzano w 1, 3 i 7 dniach po badaniu rtg. Stopień ich nasilenia wzrastał w miarę upływu czasu. Przy stosowaniu stężenia 1,5% zmiany w 1 dniu osiągały zakres podobny do obserwowanego w 3 dniu przy użyciu niższego stężenia kwasu taninowego. Stężenie 1,5% powodowało odpowiednio większe zmiany destrukcyjne w ultrastrukturze hepatocytów badanych w 3 i 7 dniach. Sądzymy, że stwierdzone przez nas zmiany morfologiczne mogą wpływać na zaburzenia funkcji komórek wątrobowych.

Z powyższych danych i piśmiennictwa (5, 8, 9) wynika, że stopień uszkodzenia funkcji wątroby zależny jest od stężenia kwasu taninowego oraz czasu, jaki upłynął między wykonaniem wlewu a jego opróżnieniem.

Chociaż wśród autorów istnieją rozbieżności w określeniu nieszkodliwego stężenia kwasu taninowego w zawiesinie kontrastowej stosowanej do wlewów, większość obserwuje ujemny wpływ tego preparatu na funkcję wątroby. Potwierdziły to również nasze spostrzeżenia w mikroskopie elektronowym, a więc prowadzone przy pomocy odmiennej techniki oceny skrawków wątroby niż technika stosowana w obserwacjach cytowanych wyżej badaczy.

Kwas taninowy daje dobre uwidocznienie błony śluzowej jelit u chorych podczas wlewów barytowych. Z licznych doświadczeń wynika jednak, że stosowanie go winno nasuwać pewne obawy.

#### PIŚMIENNICTWO

1. Burhenne H.J., Vogelaar P., Akoff R.S.: *Am. J. Roentgenol.* **96**, 510-518, 1966.
2. Christie A.C., Coe F.O., Hampton A.O., Wyatt G.M.: *Am. J. Roentgenol.* **63**, 637-664, 1950.
3. Hamilton J.B.: *Am. J. Roentgenol.* **56**, 101-103, 1946.
4. Harris P.A., Zboralska F.F., Rambo O.N., Margulis A.R., Riegelman S.: *Am. J. Roentgenol.* **96**, 498-504, 1966.
5. Janower M.L., Robbins L.L., Tomchik F.S., Weylman W.T.: *Radiology*, **85**, 887-894, 1965.
6. Mc Alister W.H., Anderson M.S., Bloomberg G.R., Margulis A.R.: *Radiology*, **80**, 765-773, 1963.
7. Rambo O.W., Zboralska F.F., Harris P.A., Riegelman S., Margulis A.R.: *Am. J. Roentgenol.* **96**, 488-497, 1966.
8. Sailer P., Wegelins U.: *Acta Radiol.* **1**, 1105-1110, 1963.
9. Shea F.P.: *Am. J. Roentgenol.* **96**, 520-522, 1966.
10. Staab E.V., Vix V.A.: *Radiology* **84**, 1087-1089, 1965.
11. Zboralska F.F., Harris F.H., Riegelman S., Rambo O.N., Margulis A.R.: *Am. J. Roentgenol.* **96**, 505-509, 1966.

## OBJAŚNIENIA RYCIN

Ryc. 1. Szczur z wykonanym wlewem doodbytniczym.

Ryc. 2. Grupa kontrolna. Komórka wątroby szczura. ER — siatka śródplazmatyczna. Er — ergastoplazma. M — mitochondria. N — jądro. Pow. około 11000x.

Ryc. 3. Grupa doświadczalna I. Komórka wątroby szczura. 1 dzień po wlewie. ER — siatka śródplazmatyczna. Er — ergastoplazma. M — mitochondria. Ly — lizosomy. N — jądro. Pow. 22000x.

Ryc. 4. Grupa doświadczalna I. Komórka wątroby szczura. 3 dzień po wlewie. ER — siatka śródplazmatyczna. Er — ergastoplazma. M — mitochondria. Ly — lizosomy. N — jądro. Pow. 22000x.

Ryc. 5. Grupa doświadczalna I. Komórka wątroby szczura. 7 dzień po wlewie. ER — siatka śródplazmatyczna. Er — ergastoplazma. M — mitochondria. L — lipidy. Pow. 22000x.

Ryc. 6. Grupa doświadczalna II. Komórka wątroby szczura. 1 dzień po wlewie. ER — siatka śródplazmatyczna. Er — ergastoplazma. M — mitochondria. N — jądro. Pow. około 22000x.

Ryc. 7. Grupa doświadczalna II. Komórka wątroby szczura. 3 dzień po wlewie. ER — siatka śródplazmatyczna. Er — ergastoplazma. M — mitochondria. N — jądro. Pow. około 22000x.

Ryc. 8. Grupa doświadczalna II. Komórka wątroby szczura. 7 dzień po wlewie. Er — ergastoplazma. M — mitochondria. N — jądro. Pow. około 22000x.

## РЕЗЮМЕ

Авторы провели исследования ультраструктуры клеток печени крыс, которым вливали барит с добавлением галлодубильной кислоты. Наблюдали токсическое действие галлодубильной кислоты на ультраструктуру исследованных клеток, которое зависело от концентрации препарата и времени, истекшего от момента вливания.

## SUMMARY

The authors examined the ultrastructure of the hepatic cells of rats which were intrarectally injected with baryte with the addition of tannic acid. They showed the toxic side effects of tannic acid on the ultrastructure of the examined cells, which were dependent on the concentration of the preparation and time which passed from its application.

## EXPLANATION OF FIGURES

Fig. 1. Barium enema in a rat.

Fig. 2. Control group. Liver cell of the rat. ER — endoplasmic reticulum, Er — granular endoplasmic reticulum, M — mitochondria, N — nucleus. Magn. ca 11,000x.

Fig. 3. Experimental group I. Liver cell of the rat. 1 day after barium enema. ER — endoplasmic reticulum, Er — granular endoplasmic reticulum, M — mitochondria, Ly — lysosomes, N — nucleus. Magn. ca 22,000x.

Fig. 4. Experimental group I. Liver cell of the rat. 3 days after barium enema. ER — endoplasmic reticulum, Er — granular endoplasmic reticulum, M — mitochondria, Ly — lysosomes, N — nucleus. Magn. ca 22,000x.

Fig. 5. Experimental group I. Liver cell of the rat. 7 days after barium enema. ER — endoplasmic reticulum, Er — granular endoplasmic reticulum, M — mitochondria, L — lipids. Magn. ca 22,000x.

Fig. 6. Experimental group II. Liver cell of the rat. 1 day after barium enema. ER — endoplasmic reticulum, Er — granular endoplasmic reticulum, M — mitochondria, N — nucleus. Magn. ca 22,000x.

Fig. 7. Experimental group II. Liver cell of the rat. 3 days after barium enema. RE — endoplasmic reticulum, Er — granular endoplasmic reticulum, M — mitochondria, N — nucleus. Magn. ca 22,000x.

Fig. 8. Experimental group II. Liver cell of the rat. 7 days after barium enema. Er — granular endoplasmic reticulum, M — mitochondria, N — nucleus. Magn. ca 22,000x.