

Katedra i Zakład Histologii i Embriologii z Pracownią Cytologii Doświadczalnej. Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: prof. dr hab. n. med. Irena Królikowska-Prasał

Irena KRÓLIKOWSKA-PRASAŁ, Józef STASZYC,
Jadwiga ROMANOWSKA-SARLEJ, Włodzimierz MATYSIAK,
Ewa KIFER

Badania cytoenzymatyczne nad wpływem pyłów glebowych na rogówkę i spojówkę oka zwierząt doświadczalnych

Цитоферментные исследования влияния почвенной пыли на роговицу и конъюнктиву
подопытных животных

The Cytoenzymatic Studies upon the Influence of the Soil Dust on the Cornea and the Conjunctiva
of the Experimental Animals

Narząd wzroku narażony jest na działanie środowiska zewnętrznego, między innymi różnego rodzaju promieniowania, jak promieniowanie ultrafioletowe (5), podczerwone (12), elektromagnetyczne (2, 6, 9), jonizujące (10), i innych czynników (1, 4, 8, 13, 16). Ostatnio spotyka się wiele prac dotyczących szkodliwego oddziaływania zanieczyszczeń w środowisku pracy i w atmosferze (3, 7, 11, 14); mogą one także powodować trwale mikrourazy w narządzie wzroku.

Prowadzone przez nas badania kompleksowe dotyczą wpływu różnego rodzaju pyłów (pyłu węglowego, glebowego, glin kopalnianych) na żywy organizm, jego tkanki i narządy (3, 11).

W niniejszej pracy oceniono działanie pyłów glebowych na rogówkę i spojówkę oka zwierząt doświadczalnych ze szczególnym uwzględnieniem zmian histoenzymatycznych zachodzących pod wpływem tych czynników.

MATERIAŁ I METODYKA

Do badań użyto 20 szczurów białych, samic rasy Wistar, które podzielono na 3 grupy doświadczalne i 1 grupę kontrolną. Zwierzętom grup doświadczalnych podawano 3 razy dziennie do worka spojówkowego zawiesinę pyłu glebowego w ciągu 7 dni. Zawiesinę sporządzono w proporcji 1 g pyłu w 25 ml roztworu soli fizjologicznej. Gleby pochodziły z różnych, losowo wybranych, 3 miejsc w kraju. Gleby przesiewano przez sito o oczkach 60 μm i z nich przygotowywano zawiesinę. Zwierzętom kontrolnym podawano do worka spojówkowego roztwór soli fizjologicznej w ciągu 7 dni. Wszystkie zwierzęta były badane codziennie za pomocą lampy szczelinowej i wziernika ocznego (14).

Do badań pobierano rogówkę i spojówkę po 24 godz. od ostatniego podania pyłu glebowego. Wycinki utrwalano w płynie Bakera lub stosowano nie utrwalone skrawki do badania enzymów oddechowych. Wykonano następujące reakcje cytoenzymatyczne: reakcję na aktywność fosfatazy kwaśnej i fosfatazy zasadowej według metody Gomoriego, reakcję na aktywność dehydrogenazy bursztynianowej (SDH) według metody Nachlasy i wsp. oraz reakcję na aktywność dehydrogenazy mleczanowej (LDH) według metody Pearse'a. Przy każdej z wymienionych reakcji enzymatycznych wykonywano próby kontrolne, przeprowadzając inkubację bezsubstratową skrawków.

WYNIKI BADAŃ

I. ROGÓWKA

Grupa kontrolna

Delikatny odczyn na aktywność dehydrogenazy bursztynianowej ujawnił się w nabłonku wielowarstwowym płaskim rogówki. W rogówce właściwej obserwowano bardzo słaby dodatni odczyn w komórkach leżących w przestrzeniach międzyblaszkowych. Natomiast intensywną reakcję na aktywność dehydrogenazy mleczanowej (LDH) obserwowano w nabłonku przednim rogówki i w rogówce właściwej (ryc. 1). Komórki nabłonka zawierały drobnoziarnisty produkt reakcji wokół jądra komórkowego. Najbardziej obfite ilości ziaren występowały w warstwie komórek przypodstawnych. Dodatnią reakcję na aktywność fosfatazy zasadowej obserwowano w przednim nabłonku rogówki. Odczyn był zlokalizowany głównie w błonach komórkowych. Słabsze odczyny o charakterze dyfuzyjnym występowały w blaszkach rogówki (ryc. 2). Obecność reakcji enzymatycznej na aktywność fosfatazy kwaśnej wykazano w nabłonku wielowarstwowym płaskim rogówki. Odczyny te miały charakter dyfuzyjny. Słaba reakcja uwidoczniła się w rogówce właściwej w przestrzeniach międzyblaszkowych (ryc. 3).

Grupy doświadczalne

W grupach doświadczalnych nie obserwowano istotnych zmian w reakcji na aktywność dehydrogenazy bursztynianowej w porównaniu z grupą kontrolną. Stwierdzono natomiast osłabienie aktywności dehydrogenazy bursztynianowej w nabłonku przednim rogówki oraz w rogówce właściwej. Szczególnie wyraźne zmiany wystąpiły w grupie III doświadczalnej (ryc. 1a). Obniżenie aktywności fosfatazy zasadowej obserwowano w nabłonku wielowarstwowym płaskim rogówki. Słabe odczyny charakteryzowały wszystkie jego warstwy, również rogówkę właściwą (ryc. 2a). Reakcja na aktywność fosfatazy kwaśnej w nabłonku przednim rogówki była podobna do reakcji w preparatach kontrolnych. Natomiast w rogówce właściwej wystąpił nie-

wielki wzrost tej reakcji (ryc. 3a). Porównując ze sobą 3 badane grupy doświadczalne (I, II i III) wykazano, że największe zmiany w rogówce oka pod wpływem stosowanych pyłów glebowych wystąpiły w grupie III doświadczalnej.

2. SPOJÓWKA

Grupa kontrolna

Delikatny ziarnisty odczyn na aktywność dehydrogenazy bursztynianowej obserwowano w nabłonku spojówki, natomiast słabsze odczyny występowały w błonie śluzowej spojówki oraz w mięśniach powieki. W gruczołach odczyny były intensywne. Spojówka oka wykazywała dodatnią reakcję na aktywność dehydrogenazy mleczanowej. Najwyższą aktywność reakcji enzymatycznej obserwowano w gruczołach spojówki. Słabsze odczyny występowały w nabłonku wielowarstwowym płaskim (ryc. 4). Intensywny odczyn na aktywność fosfatazy zasadowej obserwowano w nabłonku wielowarstwowym płaskim spojówki. Błona śluzowa właściwa dawała słabe odczyny enzymatyczne. Widoczne w niej były niewielkie skupienia limfocytów. Gruczoły spojówki wykazywały odczyny fosfatazy kwaśnej o średniej intensywności (ryc. 5). Odczyn na fosfatazę kwaśną występował w nabłonku wielowarstwowym płaskim oraz w gruczołach spojówki (ryc. 6). W błonie śluzowej niewielkie odczyny obserwowano w komórkach tkanki łącznej.

Grupy doświadczalne

Oceniając zmiany aktywności dehydrogenazy bursztynianowej w grupach doświadczalnych zwrócono uwagę, że w grupach II i III nastąpił wzrost aktywności enzymu we wszystkich elementach budowy spojówki, tj. w nabłonku, błonie śluzowej, gruczołach i mięśniach powieki. W grupie I doświadczalnej odczyny były podobne do obserwowanych w grupie kontrolnej. Wzrost intensywności reakcji na dehydrogenazę mleczanową obserwowano w gruczołach spojówkowych (ryc. 4a) oraz w błonie śluzowej i warstwach przypadających nabłonka. Osłabienie odczynu na aktywność fosfatazy zasadowej wykazywano w nabłonku spojówki oraz w gruczołach (ryc. 5a). Nie zauważono zmian w reakcji na aktywność fosfatazy kwaśnej w nabłonku wielowarstwowym płaskim spojówki oraz w gruczołach w porównaniu z grupą kontrolną (ryc. 6a). Największe zmiany w aktywności badanych enzymów obserwowano w spojówce oka zwierząt grup II i III doświadczalnych.

OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ I WNIOSKI

Prowadzone przez nas doświadczenia są kontynuacją badań nad wpływem różnych pyłów na narząd wzroku. Stwierdziliśmy dotychczas, że niektóre z pyłów powodują zapalenie brzegów powiek i zapalenie spojówek już w ciągu kilku dni (14). Mechanizm działania tych pyłów zależy od wielu czynników, a przede wszystkim od wielkości ich cząsteczek i składu chemicznego (3). Wykazano również, że nie tylko pyły przemysłowe, ale również i pyły glebowe mogą wywoływać swoiste pylicowe choroby oczu (11).

Badania wskazują, że pyły glebowe powodują zmiany w odczynach histochemicznych zarówno w rogówce, jak i spojówce oka zwierząt doświadczalnych. Zmiany te objawiały się obniżeniem aktywności fosfatazy zasadowej w nabłonku rogówki i spojówki oka, co może wskazywać na zmiany w przepuszczalności błon komórkowych nabłonka. Niewielkie zmiany, wyrażające się wzrostem aktywności fosfatazy kwaśnej, obserwowano w komórkach nabłonka spojówki, co świadczyć może o zapoczątkowaniu procesów fagocytarnych.

Oceniając zmiany w aktywności badanych dehydrogenaz stwierdzono, że bardziej czuła na działanie stosowanych pyłów była dehydrogenaza mleczanowa. Szczególnie duże zmiany w aktywności tego enzymu obserwowano w spojówce oka. We wszystkich jej strukturach, tj. w nabłonku, śluzówce właściwej i gruczołach, nastąpił wzrost aktywności dehydrogenazy mleczanowej. Porównując wpływ pyłów glebowych na rogówkę i spojówkę wykazano, że ta ostatnia jest bardziej wrażliwa na działanie tych czynników.

Oceniając wpływ 3 rodzajów stosowanych w naszym doświadczeniu pyłów glebowych stwierdzono, że działanie ich nie było jednakowe. Pył glebowy zastosowany w grupie I spowodował stosunkowo małe zmiany, inny pył glebowy, który podawano w grupie II, wywołał większe zmiany, największe zmiany obserwowano w grupie III, u zwierząt otrzymujących jeszcze inny rodzaj pyłu glebowego. Znalazło to odzwierciedlenie w odczynach histochemicznych zarówno rogówki, jak i spojówki, a zależało, jak należy sądzić, od składu chemicznego stosowanych pyłów, a także od wielkości ich cząsteczek.

Staszyc i wsp. (11) stwierdzili doświadczalnie, że ciągle narażenie na kontakty z glebą z terenów przemysłowych (15) może wywoływać swoiste pylicowe choroby oczu.

Z przeprowadzonych przez nas badań wynika, że:

- 1) pyły glebowe niekorzystnie działają na narząd wzroku;
- 2) zmiany są widoczne w odczynach histochemicznych zarówno rogówki, jak i spojówki oka;
- 3) intensywność zmian zależy od rodzaju zastosowanego pyłu glebowego;
- 4) na działanie pyłów glebowych bardziej wrażliwa jest spojówka niż rogówka oka.

PIŚMIENICTWO

1. Gerkowicz M.: Zaburzenia równowagi kwasowo-zasadowej cieczy wodnistej po doświadczalnym oparzeniu rogówki zasadą. *Klin. Oczna*, **89**, 389, 1987.
2. Kozłowski B.: Zmiany oczne u pracowników narażonych na działanie fal elektromagnetycznych wielkiej częstotliwości. *Med. Pracy* **6**, 487, 1963.
3. Królikowska-Prasał I.: Morphologische Untersuchungen der Rattenleber nach experimenteller Verabreichung von Kohlenaschen und Bodenstäuben. *Gegenbaurs morphol. Jahrb.* **134**, 205, 1988.
4. Krwawicz T.: Inhibitory Action of Low Temperature in Collagenase Activity in Experimental *herpes simplex keratitis*. *Ann. Ophthalmol.* **12**, 151, 1980.
5. Kryteria zdrowotne środowiska. Promieniowanie nadfioletowe. Min. Zdr. i Op. Społ., PZWL, Warszawa 1984, tom 14.
6. Majewska K.: Badania nad wpływem mikrofal na narząd wzroku. *Klin. Oczna*, **38**, 323, 1968.
7. Paterson C., Pfister R.: Intraocular Pressure Change after Alkali Burus. *AMA Arch. Ophthalmol.* **91**, 211, 1974.
8. Pfister R., Paterson C. A.: Ascorbic Acid in the Treatment of Alkali Burus of the Eye. *Ophthalmology* **87**, 150, 1980.
9. Smolarz-Dudarewicz J.: Ocena przepięrzności soczewek u osób zatrudnionych w kontakcie z promieniami elektromagnetycznymi o częstotliwości 27—30 MHz. *Med. Pracy* **29**, 349, 1978.
10. Smolarz-Dudarewicz J., Poborc-Godłewska J.: Ocena zmian soczewkowych u osób narażonych na działanie promieniowania jonizującego. *Med. Pracy* **27**, 219, 1976.
11. Staszyc J. i wsp.: Badania histologiczne i obserwacje kliniczne wpływu różnych pyłów na narząd wzroku małych zwierząt doświadczalnych. *Med. Pracy* **39**, 1, 1988.
12. Szymczykiwicz K. i wsp.: Wpływ kierunkowego promieniowania podczerwonego na skórę i narząd wzroku królików w wyniku ostrego i przewlekłego narażenia. *Med. Pracy* **36**, 153, 1983.
13. Toczolowski J.: Zastosowanie zimna w leczeniu oparzeń rogówki wapnem. *Klin. Oczna* **48/49**, 471, 1978.
14. Toczolowski J. i wsp.: Badania kliniczne nad wpływem popiołów lotnych, pyłów glebowych i glin na wybrane struktury narządu wzroku szczerzyc białych. *Klin. Oczna* **91**, 82, 1989.
15. Uggla H.: Gleboznawstwo rolnicze. PWN, Warszawa 1979.
16. Varga M., Tollman P.: Feinstrukturelle Untersuchungen der Bindehautoberfläche nach Langzeitbehandlung mit Timolol. *Fortschr. Ophthalmol.* **83**, 155, 1986.

Otrzymano 1989.10.09.

РЕЗЮМЕ

Проведено исследование влияния почвенной пыли на роговицу и конъюнктиву подопытных животных. Крыс поделено на 3 подопытные группы и 1 контрольную группу. Подопытным животным вводилось 3 разного вида свободно выбранную почвенную пыль в конъюнктивный мешочек 3 раза в день в течении 7 дней. Результаты исследований свидетельствуют о том, что почвенная пыль отрицательно влияет на орган зрения. Особенно чувствительна на действие пыли роговица, в результате чего отмечались значительные изменения при гистохимических реакциях.

SUMMARY

The studies of the effect of the soil dust on the cornea and the conjunctiva of the experimental animals have been performed. The rats were divided into 3 experimental groups and 1 control group. The animals were given 3 different, selected at random, kinds of soil dust to the conjunctival sac 3 times daily for 7 days. The results show that the soil dust has the negative effect on the organ of sight. The cornea is particularly sensitive to the action of dust, which evidenced itself by the significant changes in the histochemical reactions.



Ryc. 1. Rogówka, odczyn na aktywność dehydrogenazy mleczanowej, metoda Pearse'a, pow. ok. 120 × ; a — grupa kontrolna, b — grupa III doświadczalna
Cornea, reaction to lactic dehydrogenase activity, the Pearse method, magn. ca 120 × ; a — control group, b — experimental group III

Irena Królikowska-Prasał, Józef Staszyc, Jadwiga Romanowska-Sarlej,
Włodzimierz Matysiak, Ewa Kifer

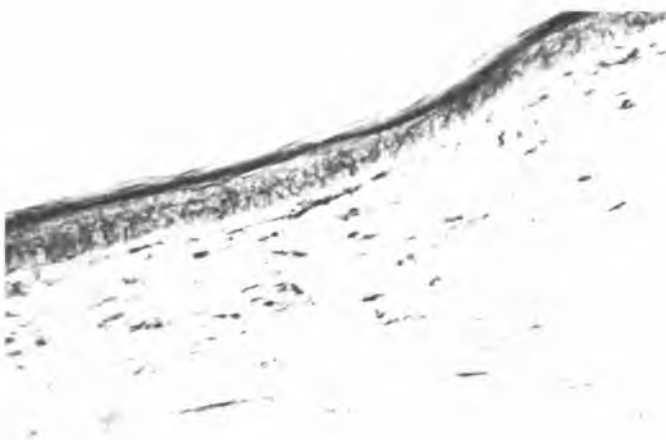


Ryc. 2. Rogówka, odczyn na aktywność fosfatazy zasadowej, metoda Gomoriego, pow. ok. 250 × ;
a — grupa kontrolna, b — grupa III doświadczalna
Cornea, reaction to alkaline phosphatase activity, the Gomori method, magn. ca 250 × ; a — control
group, b — experimental group III

Irena Królikowska-Prasał, Józef Staszyc, Jadwiga Romanowska-Sarlej,
Włodzimierz Matysiak, Ewa Kifer



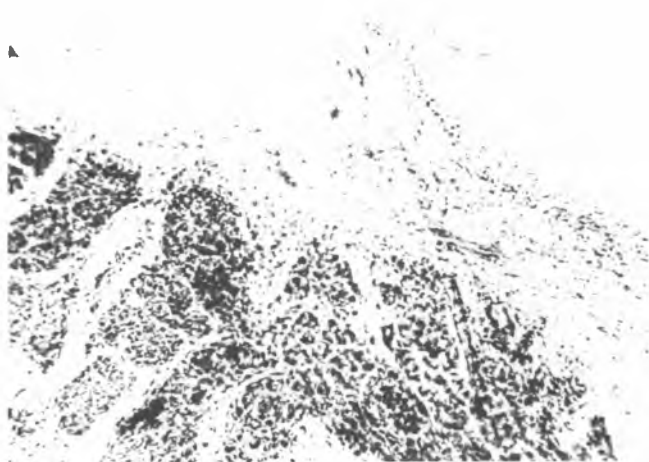
a



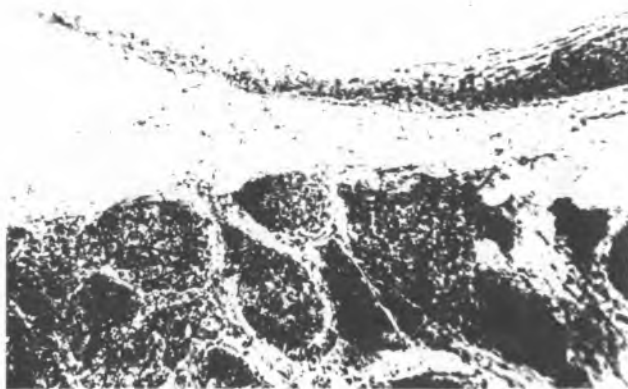
b

Ryc. 3. Rogówka, odczyn na aktywność fosfatazy kwaśnej, metoda Gomoriego, pow. ok. 100×;
a — grupa kontrolna, b — grupa III doświadczalna
Cornea, reaction to acid phosphatase activity, the Gomori method, magn. ca 100×; a — control
group, b — experimental group III

Irena Królikowska-Prasał, Józef Staszyc, Jadwiga Romanowska-Sarlej,
Włodzimierz Matysiak, Ewa Kifer



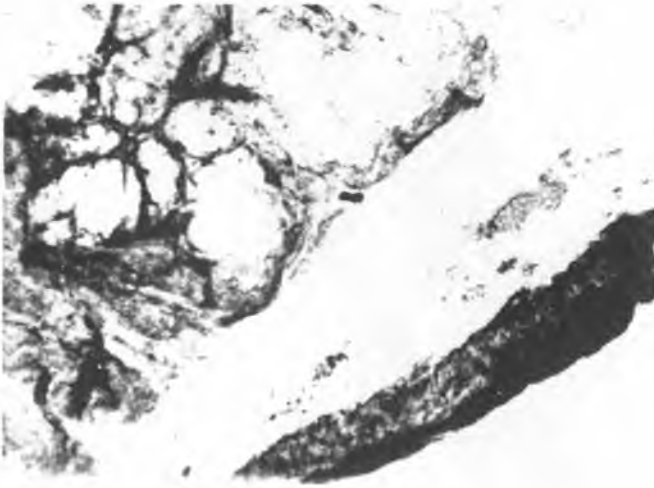
a



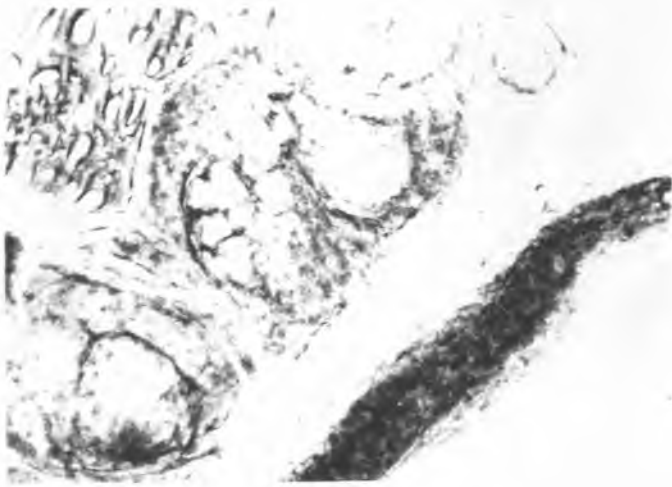
b

Ryc. 4. Spojówka, odczyn na aktywność dehydrogenazy mleczanowej, metoda Pearse'a, pow. ok. 100×; a — grupa kontrolna, b — grupa II doświadczalna
Conjunctiva, reaction to lactic dehydrogenase activity, the Pearse method, magn. ca 100×;
a — control group, b — experimental group II

Irena Królikowska-Prasał, Józef Staszyc, Jadwiga Romanowska-Sarlej,
Włodzimierz Matysiak, Ewa Kifer



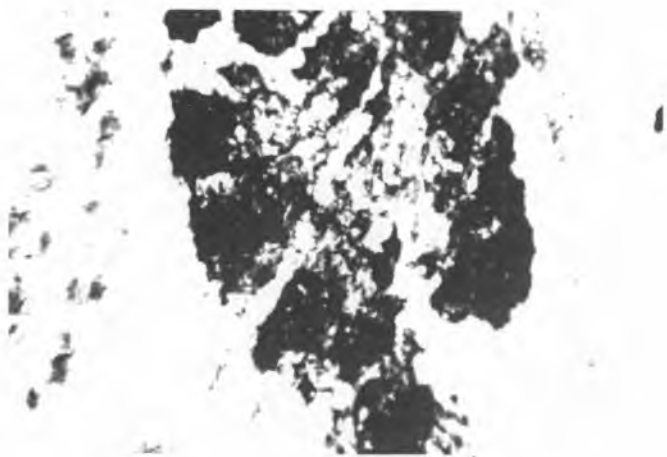
a



b

Ryc. 5. Spojówka, odczyn na aktywność fosfatazy zasadowej, metoda Gomoriego, pow. ok. 150 ×;
 a — grupa kontrolna, b — grupa II doświadczalna
 Conjunctiva, reaction to alkaline phosphatase activity, the Gomori method, magn. ca 150 ×;
 a — control group, b — experimental group II

Irena Królikowska-Prasał, Józef Staszyc, Jadwiga Romanowska-Sarlej,
 Włodzimierz Matysiak, Ewa Kifer



a



b

Ryc. 6. Spojówka, odczyn na aktywność fosfatazy kwaśnej, metoda Gomoriego, pow. ok. 80×;
a — grupa kontrolna, b — grupa III doświadczalna

Conjunctiva, reaction to acid phosphatase activity, the Gomori method, magn. ca 80×; a — control group, b — experimental group III

Irena Królikowska-Prasał, Józef Staszyc, Jadwiga Romanowska-Sarlej,
Włodzimierz Matysiak, Ewa Kifer