

Michał GÓRSKI, Halina ZAPOROWSKA

**Wzrost oraz zmiany w narządach wewnętrznych i w krwi
szczurów szczepu Wistar w przewlekłym zatruciu wanadem**

Рост и изменения во внутренних органах и в крови у крыс штамма Вистар при
хроническом отравлении ванадием

Growth and Changes in the Internal Organs and Blood of Wistar Rats in Chronic
Intoxication of Ammonium Metavanadate

W opublikowanych pracach autorzy omówili występowanie wanadu w przyrodzie, biologiczne znaczenie tego pierwiastka dla organizmów zwierzęcych i człowieka, a także toksyczne działanie oraz zagrożenie skażeniem środowiska wraz z rozwojem przemysłu, zwłaszcza naftowego. W pracach tych przedstawiono zmiany w narządach wewnętrznych i w krwi w ostrym zatruciu przy parenteralnym podaniu wanadu (5, 21) oraz zmiany we krwi tych zwierząt przy przewlekłym podawaniu wanadu drogą pokarmową (22).

Celem niniejszej pracy jest zbadanie wpływu metawanadanu amonu, podawanego *per os*, na wzrost, narządy wewnętrzne oraz liczbę krwinek czerwonych, poziom hemoglobiny i hematokryt szczurów szczepu Wistar.

MATERIAŁ I METODA

Badania przeprowadzono na 52 szczurach, 2-miesięcznych samcach szczepu Wistar. Przed rozpoczęciem doświadczeń wszystkie zwierzęta ważono, a następnie podzielono na 3 grupy doświadczalne. Zwierzętom każdej grupy podawano w wodzie do picia metawanadan amonu — NH_4VO_3 (MVA) firmy Reachim. Stężenie wanadu wynosiło 200 ppm. Równocześnie dla każdej grupy doświadczalnej utworzono grupę zwierząt kontrolnych, którym podawano do picia wodę wodociągową. Zwierzęta karmiono standardową paszą granulowaną LSM.

Po upływie 1, 2 oraz 3 miesięcy zwierzęta ważono powtórnie, a następnie uśmiercano w narkozie eterowej i pobierano krew, w której oznaczano ilość erytrocytów, poziom hemoglobiny oraz wskaźnik hematokrytu. Bezpośrednio po pobraniu krwi wykonywano sekcję zwierząt, pobierano wycinki narządów wewnętrznych i utrwalano w formalinie. Utrwalone skrawki przeprowadzano w bloczki parafinowe, a następnie wykonywano preparaty, barwiąc je H+E. W wycinkach wątroby i nerek utrwalonych w zimnym płynie Bakera wykonywano odczyn na fosfatazę kwaśną i zasadową wg metody precipitacyjnej Gomoriego (10).

WYNIKI BADAŃ I Dyskusja

Podczas doświadczenia nie obserwowano różnic w zachowaniu zwierząt pomiędzy grupami doświadczalnymi a grupami kontrolnymi. Nie spostrzeżono również wśród zwierząt grupy doświadczalnej obniżonego pragnienia (poza 6—10-dniowym okresem początkowym) ani łaknienia.

Zaobserwowano natomiast bardzo wyraźne zahamowanie przyrostu ciężaru ciała, które po 1 miesiącu wynosiło 87,5%, po 2 miesiącach — 74,9%, a po 3 miesiącach — 56,8% w stosunku do średniego przyrostu ciężaru ciała grup kontrolnych (tab. 1).

Wyniki naszych badań pokrywają się z obserwacjami szeregu autorów. O silnym hamowaniu wzrostu szczurów w następstwie 3-tygodniowego zatrucia V_2O_5 per os wspomina m. in. Chakraborty i współprac. (2). Hafez i współprac. (7, 8) donoszą o spadku ciężaru ciała kurcząt odżywianych dietą zawierającą 100 i 200 ppm wanadu. Berg

Tab. 1. Wpływ metawanadanu amonu na ciężar ciała szczurów szczepu Wistar (wartości średnie i błędy standardowe)

The effect of ammonium metavanadate on body weight of Wistar rats (mean values and standard errors)

Ekspozycja miesiące Exposure months	V ppm	Liczeb- ność grupy Number of animals	Początkowy ciężar ciała Body weight at the beginning of the experi- ment g	Końcowy ciężar ciała Body weight at the end of the experi- ment g	Zmiany ciężaru ciała Difference in body weight g	Zahamo- wanie wzrostu w stosun- ku do kontroli Growth depression %
1	—	6	227,15 ±11,87	280,33 ±18,73	+53,18 ±15,04	—
1	200	13	218,32 ±8,36	224,94 ±9,91	+6,62 ±4,47	87,5
2	—	6	210,0 ±9,73	302,33 ±14,01	+92,4 ±8,19	—
2	200	13	210,23 ±5,70	233,35 ±5,21	+23,12 ±7,10	74,9
3	—	5	181,80 ±14,01	289,10 ±16,44	+107,3 ±16,54	—
3	200	9	220,28 ±6,4	266,56 ±10,89	+46,28 ±13,15	56,8

(1) obserwował zahamowanie wzrostu kurcząt już przy zawartości 20 ppm wanadu w diecie.

Inni autorzy podkreślają tylko nieznaczne zmiany ciężaru ciała cieląt (11) oraz owiec (9) w trakcie zatrutowania wanadem *per os*. Schroeder i współprac. (15) nie stwierdzili zmian ciężaru ciała myszek otrzymujących wanad. Podobnie White i Dieter (20) nie zaobserwowali takich zmian u kaczek krzyżówek odżywianych przez 12 tygodni dietą zawierającą 0,1, 10 i 100 ppm wanadu.

Schwarz i Milne (16) wykazali natomiast, że wanad w bardzo niskich stężeniach rzędu 0,01—0,05 ppm powoduje przyśpieszenie wzrostu szczurów o 21—40%.

W naszym materiale nie stwierdzono w obrębie przewodu pokarmowego (żołądka i jelit) wyraźniejszych zmian patologicznych. W wątrobie kilku zwierząt znaleziono obraz zwyrodnienia mięszonego oraz nieznacznie wzmożony odczyn na fosfatazę kwaśną.

W nerkach obserwowano zwyrodnienie mięszone i wodniczkowe nabłonka kanalików nerek oraz w połowie blisko przypadków obecność wałeczków w kanalikach nerkowych. W przypadkach tych najczęściej odczyn na FK był wzmożony. Wałeczki wykazywały bardzo wyraźny odczyn na FZ (ryc. 1, 2). Poza opisanymi zmianami nie znaleziono wyraźniejszych zmian patologicznych w narządach zwierząt.

Inni autorzy znajdowali bardziej lub mniej zaznaczone zmiany w narządach wewnętrznych przy przewlekłym podawaniu wanadu. Roszczin i współprac. (12) obserwowali niezbyt żołądka u myszy przy podawaniu *per os* dużych dawek (1000 mg/kg) metalicznego wanadu, ferrowanadu lub węglika wanadu. Ten sam autor obserwował u szczurów i królików po 9—12 miesiącach podawania drogą inhalacyjną V_2O_5 , V_2O_3 i VCl_3 zmiany tłuszczowe w wątrobie oraz ogniska martwicy komórek (13). Zmiany tłuszczowe w wątrobie szczurów opisał również Kak u i współprac. (wg 4) po podskórnym podawaniu wanadanu amonu (1 mgV/kg/dzień przez 30 dni). Inni autorzy zaobserwowali, jako wynik przewlekłego działania związków wanadu, odczyny zapalne w żołądku i jelitach (14) oraz mięszone i tłuszczowe zwyrodnienie wątroby (17). Hudson (3) opisał przekrwienie i ogniska martwicy w nabłonku kanalików krętych nerek jako wynik ostrego zatrucia wanadem. Roszczin wspomina o zmianach tłuszczowych w nerkach szczurów i królików poddanych działaniu VCl_3 drogą inhalacyjną (13).

W grupie zwierząt, którym podawaliśmy MVA przez okres 1 miesiąca, stwierdzono znamienne obniżenie ilości czerwonych ciałek krwi, poziomu hemoglobiny oraz wartości wskaźnika hematokrytu. Przy czym najniższe wartości znajdowano u zwierząt, u których w kanalikach nerkowych występowały wałeczki. Po 2 miesiącach podawania MVA obniżenie tych

wartości było również statystycznie znamienne. Po 3 miesiącach ilość erytrocytów, poziom hemoglobiny oraz wartość wskaźnika hematokrytu były tylko nieznacznie niższe niż w kontroli i różnice te okazały się statystycznie nieznamienne (tab. 2).

Tab. 2. Wpływ metawanadanu amonu na wybrane wskaźniki krwi obwodowej szczurów szczepu Wistar (wartości średnie i błędy standardowe)

The effect of ammonium metavanadate on some indexes in the peripheral blood of Wistar rats (mean values and standard errors)

Ekspozycja miesiące Exposure months	V ppm	Erythrocyty Erythrocytes T/l	Hemoglobina Haemoglobin mmol/l	Wskaźnik hematokrytu Hematocrit l/l
1	—	8,30 ±0,28	8,88 ±0,34	0,47 ±0,004
1	200	6,91 ±0,25**	7,42 ±0,15***	0,42 ±0,008**
2	—	8,48 ±0,39	0,12 ±0,32	0,49 ±0,005
2	200	7,28 ±0,18**	8,22 ±0,14*	0,45 ±0,009**
3	—	7,52 ±0,27	8,03 ±0,37	0,47 ±0,007
3	200	7,47 ±0,39	8,01 ±0,19	0,46 ±0,008

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$.

Spadek poziomu hemoglobiny u szczurów w następstwie podawania związków wanadu drogą pokarmową wykazał również Chakraborty i współprac. (2) oraz Sielankina (14). Podobne zmiany stwierdził Roszczin (13) u innych zwierząt laboratoryjnych. Gulko (6) zaś obserwował u królików przejściowe podwyższenie ilości erytrocytów oraz poziomu hemoglobiny, a następnie spadek tych wskaźników pod wpływem dalszego działania wanadu.

Hansard i współprac. (9) oraz Platonow i Abbey (11) nie obserwowali zmian w poziomie omawianych wskaźników u owiec i cieląt pod wpływem przewlekłego podawania wanadu.

Trummert i Boehm (wg 4), którzy podawali dożylnie królikom glukonian wanadu w ilości 0,3—1,5 mgV/kg/dzień przez 40 dni, obserwowali wzrost liczby erytrocytów, lecz bez podwyższenia poziomu hemoglobiny.

Kopyłowa (wg 4) natomiast obserwowała nieznaczny wzrost liczby erytrocytów u królików otrzymujących podskórnie siarczan wanadylu przez 2 miesiące (1 mg/kg/dzień), czemu towarzyszył statystycznie znamienny wzrost poziomu hemoglobiny.

Wyjaśnienie mechanizmu tak znacznego zahamowania przyrostu ciężaru ciała pod wpływem wanadu, obserwowanego w naszych badaniach, nie jest łatwe, gdyż zwierzęta zatrutowane spożywały podobne ilości pokarmu jak zwierzęta grupy kontrolnej. Nie znaleziono również w prze-

wodzie pokarmowym wyraźniejszych zmian patologicznych, które mogłyby tłumaczyć to zjawisko. Ogniskowe zwyrodnienie mięszone wątroby i nerek w pojedynczych przypadkach, jak również występowanie wałeczków w kanalikach nerkowych u zwierząt zatrutowanych wanadem nie może w sposób dostateczny tłumaczyć tak znacznego zahamowania wzrostu, tym bardziej że wcześniejsze badania autorów (22) nie wykazały wzrostu poziomu „enzymów uszkodzenia” w surowicy krwi, co świadczy o braku znacniejszego uszkodzenia narządów mięszenych.

Wyraźne, chociaż ustępujące z biegiem czasu, obniżenie ilości erytrocytów, poziomu hemoglobiny i wskaźnika hematokrytu, jakie obserwowaliśmy w naszych badaniach, jest trudne do wytłumaczenia. Nie stwierdzono bowiem uchwytanych zmian w śluzówce przewodu pokarmowego, które tłumaczyć by mogły obniżenie wchłaniania żelaza z następną anemią. Być może, istnieje interakcja pomiędzy wanadem a innymi pierwiastkami, których brak powoduje niedokrwistość. Friberg i współpracownicy (4) sugerują konieczność prowadzenia dalszych badań nad interakcją pomiędzy wanadem i żelazem.

Należy brać pod uwagę również możliwość działania wanadu na inne pierwiastki śladowe. Toksyczność wanadu jest bowiem zwiększana przez jony cynku. Natomiast jony chromu i manganu zmniejszają działanie toksyczne wanadu podawanego *per os* (19). Według Wrighta (wg 19) wanad i chrom konkurują ze sobą w transporcie poprzez błony.

Zahamowanie wzrostu zwierząt oraz obniżenie erytropoezy tłumaczyć można również hamującym działaniem wanadu na cały szereg enzymów i koenzymów (19).

Trudno jest wytłumaczyć zmniejszający się efekt działania toksycznego wanadu w czasie trwania doświadczenia. Obserwacje te mogą sugerować, że organizm zwierzęcy przyzwyczaja się do działania wanadu lub uruchamia jakieś mechanizmy pozwalające zahamować szkodliwe działanie tego pierwiastka. Należy wziąć również pod uwagę, że największy przyrost ciężaru ciała zwierząt miał miejsce w pierwszym miesiącu doświadczenia, tj. w trzecim miesiącu życia. W ostatnim zaś miesiącu doświadczenia, gdy zwierzęta miały 5 miesięcy, przyrosty ciężaru ciała były najmniejsze.

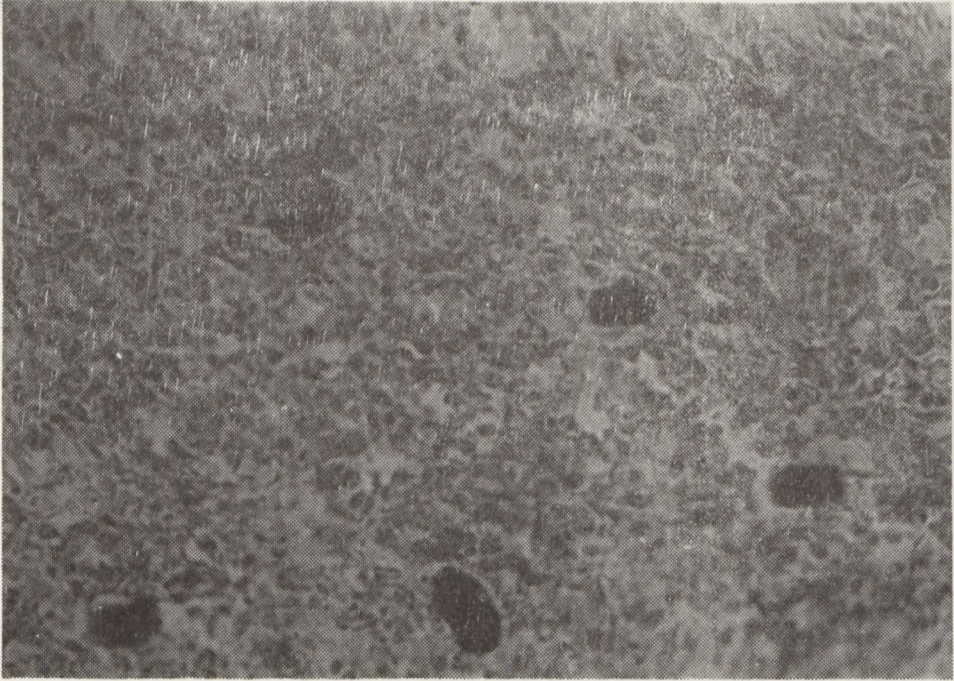
WNIOSKI

1. Metawanadan amonu powoduje zahamowanie przyrostu ciężaru ciała szczurów szczepu Wistar.
2. Metawanadan amonu wywołuje spadek ilości erytrocytów, poziomu hemoglobiny oraz wartości wskaźnika hematokrytu u szczurów.

3. Efektywność działania metawanadanu amonu podawanego *per os* przez okres 3 miesięcy zmniejsza się wraz z upływem czasu.

PISMIENNICTWO

1. Berg L. R.: Effect of Diet Composition on Vanadium Toxicity for the Chick. *Poultry Sci.* **45**, 1346—1352 (1966).
2. Chakraborty D., Bhattacharyya A., Majumdar K., Chatterjee G. C.: Effect of Chronic Vanadium Pentoxide Administration on L-ascorbic Acid Metabolism in Rats: Influence of L-ascorbic Acid Supplementation. *Internat. J. Vit. Nutr. Res.* **47**, 81—87 (1977).
3. Faulkner-Hudson T. G.: Vanadium, Toxicology and Biological Significance. Elsevier Publishing Company, Amsterdam—London—New York 1964.
4. Friberg L., Nordberg G. F., Vouk V. B.: Handbook on the Toxicology of Metals. Elsevier North—Holland Biochemical Press. Amsterdam—New York—Oxford 1979.
5. Górski M., Zaporowska H.: Wpływ metawanadanu amonu na narządy wewnętrzne i krew szczurów szczepu Wistar. *Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska, sectio C* **36**, 27—35 (1981).
6. Gulko A. G.: K charakteristyk wanadija kak promyslennogo jada. *Gig. San.* **11**, 24—28 (1956).
7. Hafez Y. S. M., Kratzer F. H.: The Effect of Diet on the Toxicity of Vanadium. *Poultry Sci.* **55**, 918—922 (1976).
8. Hafez Y. S. M., Kratzer F. H.: The Effect of Dietary Vanadium on Fatty Acid and Cholesterol Synthesis and Turnover in the Chick. *J. Nutrition* **106**, 249—257 (1976).
9. Hansard S. L., Ammerman C. B., Fick K. R., Miller S. M.: Performance and Vanadium Content of Tissues in Sheep as Influenced by Dietary Vanadium, *J. Animal. Sci.* **46**, 1091—1095 (1978).
10. Krygier A., Godlewski H.: Skrypt metod histochemicznych. *Pol. Tow. Histochem. i Cytochem.* Warszawa 1963.
11. Platonow N., Abbey H. K.: Toxicity of Vanadium in Calves. *Vet. Record*, **82**, 292—293 (1968).
12. Roszczin I. W., Żydkowa L. W., Dyszenkina A. J., Łucenko L. A.: O patologicznych swojstwach proizwodstwiennoj pyli wanadija fierrowanadija i karbida wanadija. *Gig. Tr. Prof. Zabol.* **4**, 21—25 (1966).
13. Roszczin I. W.: Toksikologija sojedinenij wanadija primieniajemych w sowriemiennoj promyslennosti. *Gig. Sanit.* **6**, 26—32 (1967).
14. Sielankina K. P.: Materialy k higieniczskomu normirowaniju sodierżanija wanadija w wodie wodojomow. *Gig. Sanit.* **10**, 6—12 (1961).
15. Schroeder H. A., Balassa J. J.: Arsenic, Germanium, Tin and Vanadium in Mice: Effect on Growth, Survival and Tissue Levels. *J. Nutrition* **92** 245—252 (1967).
16. Schwarz K., Milne D. B.: Growth Effects of Vanadium in the Rat. *Science* **174**, 426—428 (1971).
17. Szkurko T., Brachnowa I. T.: Ocenka wlijanija na organy gibridow pieriechodnych mietalłow V grupy z uczotom ich elektronnoego i kristalliczeskogo strojenija. *Gig. Tr. Prof. Zabol.* **1**, 43—45 (1975).



Ryc. 1. Nerka zwierzęcia z grupy II; odczyn na fosfatazę zasadową według metody Gomoriego, powiększenie ok. 150×; liczne wałeczki w kanalikach warstwy rdzennej, dające intensywny odczyn na fosfatazę zasadową

The kidney of an animal of group II; reaction to alkaline phosphatase according to the Gomori method, magnification about 150×; numerous casts in the tubules of medulla with intense reaction to alkaline phosphatase



Ryc. 2. Nerka zwierzęcia z grupy II; odczyn na fosfatazę zasadową według metody Gomoriego, powiększenie ok. 300×; duży wałeczek w kanaliku warstwy rdzennej, dający intensywny odczyn na fosfatazę zasadową
The kidney of an animal of group II; reaction to alkaline phosphatase according to the Gomori method, magnification about 300×; a big cast in the tubule of medulla with intense reaction to alkaline phosphatase

18. Underwood E. J.: Trace Elements in Human and Animal Nutrition. Academic Press, New York and London 1971.
19. Venugopal P., Luckey T. D.: Metal Toxicity in Mammals 2. Plenum Press, New York and London 1978.
20. White D. H., Dieter M. P.: Effects of Dietary Vanadium in Mallard Ducks. *J. Toxicol. Environ. Health.* 4, 43—50 (1978).
21. Zaporowska H., Górski M., Paździór M.: Mat. II Konf. nt. Wpływ zanieczyszczenia pierwiastkami śladowymi i siarką na przyrodnicze warunki rolnictwa. IUNG, Puławy 1980, 91—95.
22. Zaporowska H., Górski M.: Obraz krwi obwodowej oraz niektóre parametry biochemiczne surowicy krwi szczurów szczepu Wistar w przewlekłym zatruciu wanadem. *Arch. Med. Sąd. i Krym.* 31, 105—109 (1981).

РЕЗЮМЕ

Исследования проводили на 52 крысах, самцах штамма Вистар, которым в течение 1, 2 и 3 месяцев вместе с питьевой водой подавали метаванадан аммония NH_4VO_3 (MVA) концентрации 200 ppm V производства фирмы Reachim. Наблюдали у всех животных заторможение прироста веса тела, падение числа эритроцитов, уровня гемоглобина и величины гематокритического индекса. В печени некоторых животных обнаружено паренхиматозное перерождение. В то же время в почках наблюдали паренхиматозное и вакуольное перерождения, цилиндры в почечных канальцах.

SUMMARY

Investigations were carried out on 52 male rats of Wistar strain which for one, two, and three months were given drinking water containing ammonium metavanadate, NH_4VO_3 (MVA), Reachim, at a concentration of 200 ppm of V. All the animals poisoned with vanadium revealed an inhibition of body weight increase as well as falls in the erythrocyte count, haemoglobin level haematocrit index, in relation to control animals. In single cases the liver of the animals showed parenchymatous degeneration, while the kidneys revealed parenchymatous and vacuolar degeneration as well as casts in kidney tubules.

12 Underwood E. J. *Toxic Elements in Human and Animal Nutrition*. Academic Press, New York and London, 1971.

13 Vannoy J. P., Luskay T. D. *Metal Toxicity in Mammals 2*. Plenum Press, New York and London, 1974.

14 White D. H., Dieter M. P. *Effect of Dietary Vanadium in Males*. *J. Nutr.* 102: 1-10 (1972).

15 White D. H., Dieter M. P., and Luskay T. D. *Effect of Vanadium in Males*. *J. Nutr.* 102: 11-20 (1972).

16 White D. H., Dieter M. P., and Luskay T. D. *Effect of Vanadium in Males*. *J. Nutr.* 102: 21-30 (1972).

17 White D. H., Dieter M. P., and Luskay T. D. *Effect of Vanadium in Males*. *J. Nutr.* 102: 31-40 (1972).

18 White D. H., Dieter M. P., and Luskay T. D. *Effect of Vanadium in Males*. *J. Nutr.* 102: 41-50 (1972).

19 White D. H., Dieter M. P., and Luskay T. D. *Effect of Vanadium in Males*. *J. Nutr.* 102: 51-60 (1972).

20 White D. H., Dieter M. P., and Luskay T. D. *Effect of Vanadium in Males*. *J. Nutr.* 102: 61-70 (1972).

21 White D. H., Dieter M. P., and Luskay T. D. *Effect of Vanadium in Males*. *J. Nutr.* 102: 71-80 (1972).

22 White D. H., Dieter M. P., and Luskay T. D. *Effect of Vanadium in Males*. *J. Nutr.* 102: 81-90 (1972).

23 White D. H., Dieter M. P., and Luskay T. D. *Effect of Vanadium in Males*. *J. Nutr.* 102: 91-100 (1972).

24 White D. H., Dieter M. P., and Luskay T. D. *Effect of Vanadium in Males*. *J. Nutr.* 102: 101-110 (1972).

25 White D. H., Dieter M. P., and Luskay T. D. *Effect of Vanadium in Males*. *J. Nutr.* 102: 111-120 (1972).

26 White D. H., Dieter M. P., and Luskay T. D. *Effect of Vanadium in Males*. *J. Nutr.* 102: 121-130 (1972).

27 White D. H., Dieter M. P., and Luskay T. D. *Effect of Vanadium in Males*. *J. Nutr.* 102: 131-140 (1972).

28 White D. H., Dieter M. P., and Luskay T. D. *Effect of Vanadium in Males*. *J. Nutr.* 102: 141-150 (1972).

29 White D. H., Dieter M. P., and Luskay T. D. *Effect of Vanadium in Males*. *J. Nutr.* 102: 151-160 (1972).

30 White D. H., Dieter M. P., and Luskay T. D. *Effect of Vanadium in Males*. *J. Nutr.* 102: 161-170 (1972).

31 White D. H., Dieter M. P., and Luskay T. D. *Effect of Vanadium in Males*. *J. Nutr.* 102: 171-180 (1972).

32 White D. H., Dieter M. P., and Luskay T. D. *Effect of Vanadium in Males*. *J. Nutr.* 102: 181-190 (1972).

33 White D. H., Dieter M. P., and Luskay T. D. *Effect of Vanadium in Males*. *J. Nutr.* 102: 191-200 (1972).

34 White D. H., Dieter M. P., and Luskay T. D. *Effect of Vanadium in Males*. *J. Nutr.* 102: 201-210 (1972).

35 White D. H., Dieter M. P., and Luskay T. D. *Effect of Vanadium in Males*. *J. Nutr.* 102: 211-220 (1972).

36 White D. H., Dieter M. P., and Luskay T. D. *Effect of Vanadium in Males*. *J. Nutr.* 102: 221-230 (1972).

37 White D. H., Dieter M. P., and Luskay T. D. *Effect of Vanadium in Males*. *J. Nutr.* 102: 231-240 (1972).

38 White D. H., Dieter M. P., and Luskay T. D. *Effect of Vanadium in Males*. *J. Nutr.* 102: 241-250 (1972).

39 White D. H., Dieter M. P., and Luskay T. D. *Effect of Vanadium in Males*. *J. Nutr.* 102: 251-260 (1972).

40 White D. H., Dieter M. P., and Luskay T. D. *Effect of Vanadium in Males*. *J. Nutr.* 102: 261-270 (1972).

41 White D. H., Dieter M. P., and Luskay T. D. *Effect of Vanadium in Males*. *J. Nutr.* 102: 271-280 (1972).