

ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN — POLONIA

VOL. XXXIII, 34

SECTIO D

1978

Klinika Ogólna Chorób Wewnętrznych. Instytut Chorób Wewnętrznych. Wydział Lekarski.
Akademia Medyczna w Lublinie

Kierownik: prof. dr hab. Janusz Hanzlik

Zakład Histologii i Embriologii. Instytut Biologiczno-Morfologiczny. Wydział Lekarski.
Akademia Medyczna w Lublinie

Kierownik: prof. dr med. dr h.c. Stanisław Grzycki

Ireneusz WOLAŃSKI

**Niektóre zmiany histochemiczne w wątrobie, nerkach i płucach
szczura białego w przebiegu ostrego zatrucia dwumetyloformamidem**

Некоторые гистохимические изменения в печени, почках и лёгких белой крысы
при остром отравлении диметилформамидом

Changes of the Some Histochemical Reactions in the White Rat Liver, Kidney and
Lungs in the course of Acute Dimethylformamide Toxicity

Wprowadzenie do produkcji nowych związków chemicznych stwarza zagrożenie powstania ostrych zatruc tymi preparatami. Dwumetyloformamid (DMF), jako uniwersalny rozpuszczalnik, jest powszechnie stosowany w zakładach przemysłu chemicznego przy produkcji włókien sztucznych i syntetycznej skóry (4). Jako związek toksyczny może DMF oddziaływać na ustrój, gdyż jest wchłaniany przez nie uszkodzoną skórę, układ oddechowy i przewód pokarmowy (1). Celem podjętej pracy było wykazanie, w jakim stopniu w zależności od drogi dostania się do ustroju powoduje on uszkodzenie takich narządów, jak wątroba, nerki i płuca.

MATERIAŁ I METODYKA BADAŃ

W naszym doświadczeniu wywoływaliśmy ostre zatrucie stosując DMF drogą przezskórną, wziewną i przez przewód pokarmowy. Do każdego rodzaju zatrucia użyliśmy po trzy białe szczury. Trzy zdrowe zwierzęta stanowiły grupę kontrolną. Dozoładowo i drogą wziewną stosowaliśmy DMF w dawce 0,8 ml na 100 g c.c. Zatrucie przezskórne wywoływano zanurzając ogon zwierzęcia na okres 8 godz. w roztworze DMF. Po 24 godz. od chwili wywołania zatrucia zwierzęta zabijano przez dekapitację. Materiał do badań pobierano zarówno od zwierząt zatrutych, jak i grupy kontrolnej z lewego płata wątroby, lewej nerki i lewego płuca. Część wy-

cinków utrwalano w płynie Bakera w tmp. 4°C przez okres 24 godz., a następnie cięto w mikrotomie mroźniowym i wykonywano odczyny na aktywność fosfatazy kwaśnej i zasadowej według metody Gomoriego. Drugą część wycinków utrwalano w płynie Carneya i na skrawkach parafinowych wywoływano reakcję PAS na mukopolisacharydy według metody McManusa. Reakcje kontrolne dla fosfatazy kwaśnej i zasadowej przeprowadzano w środowisku bezsubstratowym w tych samych warunkach. Dla mukopolisacharydów i glikogenu wykonywano reakcje kontrolne z diastazą i dimedonem.

WYNIKI BADAŃ

Wątroba

W wątrobie zwierząt kontrolnych odczyn na fosfatazę kwaśną występuje w postaci ziaren — lizosomów rozmieszczonych wzdłuż kanalików żółciowych (ryc. 1). W grupie po dożołądkowym podaniu DMF wykazano wyraźny wzrost aktywności fosfatazy kwaśnej zarówno w pobliżu kanalików żółciowych, jak również w pozostałej cytoplazmie hepatocytów, gdzie pojawiły się duże ziarna — cytolisomy (ryc. 2). Zauważono liczne komórki żerne Browicza-Kupffera z intensywnym odczynem na fosfatazę kwaśną. W grupie zwierząt, którym DMF podano drogą wziewną wystąpił wzrost fosfatazy kwaśnej w porównaniu z grupą kontrolną, lecz mniejszy niż w poprzedniej grupie. Minimalne lub w ogóle nie wykazano zmian fosfatazy kwaśnej w grupie zwierząt zatrutowanych przez skórę (ryc. 3).

Fosfataza zasadowa w wątrobie zwierząt kontrolnych wykazywała odczyny w błonie komórkowej hepatocytów oraz w śródbłonku naczyniowym (ryc. 4). Nie stwierdzono wyraźnych zmian aktywności tego enzymu u zwierząt po podaniu DMF niezależnie od drogi, jaką go podano (ryc. 5). Substancje PAS dodatnie w wątrobie zwierząt kontrolnych dawały intensywne odczyny w hepatocytach leżących w pobliżu *vena centralis*. Słabszą reakcję wykazano w komórkach strefy obwodowej. W grupie zwierząt, którym podano DMF doustnie i drogą wziewną stwierdzono w poszczególnych komórkach wzrost glikogenu (ryc. 6), czego nie obserwowano u zwierząt, którym stosowano DMF przez skórę.

Nerka

Odczyn na fosfatazę kwaśną w preparatach zwierząt kontrolnych widoczny jest w nabłonku kanalików krętych (ryc. 1). Ciałka nerkowe, część rdzenna nerki oraz cewki nefronu wykazują słabe, często dyfuzyjne odczyny na aktywność fosfatazy kwaśnej. U zwierząt, które były zatrutowane

przez podanie DMF do żołądka lub drogą wziewną, stwierdzono wzrost intensywności odczynu fosfatazy kwaśnej. Szczególnie widoczny był on u zwierząt zatrutych przez przewód pokarmowy i polegał na wystąpieniu intensywnych odczynów w postaci dużych ziaren z odczynem na fosfatę kwaśną w kanalikach krętych, a także w ciałkach nerkowych (ryc. 8). Nie stwierdzono zmian w wypadku wchłaniania się preparatu przez skórę (ryc. 9).

Odczyn na fosfatazę zasadową widoczny był w rąbku szczoteczkowym kanalików krętych w grupie kontrolnej. Ciałka nerkowe dawały słabe, często dyfuzyjne odczyny (ryc. 10). U zwierząt zatrutych drogą przewodu pokarmowego i oddechowego obserwowano osłabienie aktywności fosfatazy zasadowej w rąbku szczoteczkowym kanalików krętych nerki (ryc. 11). W pozostałej grupie zwierząt zmian nie obserwowano.

Odczyny PAS dodatnie, wskazujące na obecność mukopolisacharydów u zwierząt kontrolnych, występowały w szczytowych częściach komórek oraz rąbku szczoteczkowym kanalików krętych nerki i błonach podstawnych. Widoczny był także odczyn w ciałkach nerkowych, w ścianach naczyń oraz w torebce Bowmana (ryc. 12). U zwierząt grup doświadczalnych nie stwierdzono wystąpienia istotnych różnic w porównaniu z grupą kontrolną.

Płuc o

W płucu zwierząt kontrolnych aktywność fosfatazy kwaśnej wykazano w ścianach pęcherzyków płucnych oraz w komórkach fagocytarnych (ryc. 13). W grupie zwierząt, którym DMF podawany był drogą wziewną, zauważono wzrost komórek żernych wykazujących intensywną reakcję na fosfatazę kwaśną (ryc. 14). Natomiast nie obserwowano tych zmian w grupie zwierząt zatrutych przez przewód pokarmowy i przez skórę.

Intensywny odczyn na fosfatazę zasadową stwierdzono w ścianach pęcherzyków płucnych, ich błonach podstawnych, w ścianach naczyń oraz w komórkach nabłonka oskrzeli i oskrzelików (ryc. 15). U zwierząt, którym preparat podano drogą wziewną obserwowano osłabienie aktywności fosfatazy zasadowej w ścianach pęcherzyków płucnych. Pewien niewielki spadek aktywności tego enzymu obserwowano u zwierząt zatrutych drogą pokarmową (ryc. 16). W grupie zwierząt, którym podawano preparat przez skórę — zmian nie wykazano. Reakcje PAS dodatnie w grupie zwierząt kontrolnych występowały w ścianach pęcherzyków płucnych i ich błonach podstawnych (ryc. 17). Wykazano je także w ścianach naczyń krwionośnych i w błonach podstawnych oskrzeli oraz oskrzelików. Pewien wzrost substancji PAS dodatnich obserwowano u wszystkich zatrutych zwierząt, a szczególnie u zwierząt, którym preparat podano drogą wziew-

ną. Odczyn występował w błonach podstawnych pęcherzyków płucnych, w oskrzelikach i w niektórych naczyniach krwionośnych (ryc. 18).

OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ

Zmiany histochemiczne zachodzące w komórkach poszczególnych narządów są jednym z czulszych testów, świadczących o ich uszkodzeniu. W badaniach tych substancją toksyczną był dwumetyloformamid, będący silnie działającym środkiem toksycznym, powodującym szczególnie uszkodzenie narządów mięsnych (2, 3, 6, 7). Wprawdzie użyta przez nas dawka DMF wynosi jedynie połowę DLD 50, przewidzianą dla szczura (1, 3), to jednak obserwowane zmiany świadczą o dość znacznym toksycznym jego wpływie, szczególnie na wątrobę, co jest zgodne z opinią innych badaczy (3, 5). Ten toksyczny wpływ widoczny był najbardziej w wypadku podania DMF dożołądkowo (5). Zmiany w płucach obserwowaliśmy wyłącznie w przypadkach podania dwumetyloformamidu drogą wziewną, co można tłumaczyć tym, że tylko w tym wypadku stężenie substancji toksycznej było wystarczająco duże, aby wywołać zmiany histochemiczne, gdyż DMF nie wydziela się drogą oddechową. Bardzo niewielkie zmiany lub wcale zmian nie obserwowaliśmy po podaniu DMF przez skórę, co może świadczyć o pewnym utrudnieniu przenikania substancji toksycznej przez nie uszkodzoną skórę lub, że czas ekspozycji i powierzchnia jej działania była zbyt mała, aby wywołać objawy ostrego zatrucia.

PIŚMIENNICTWO

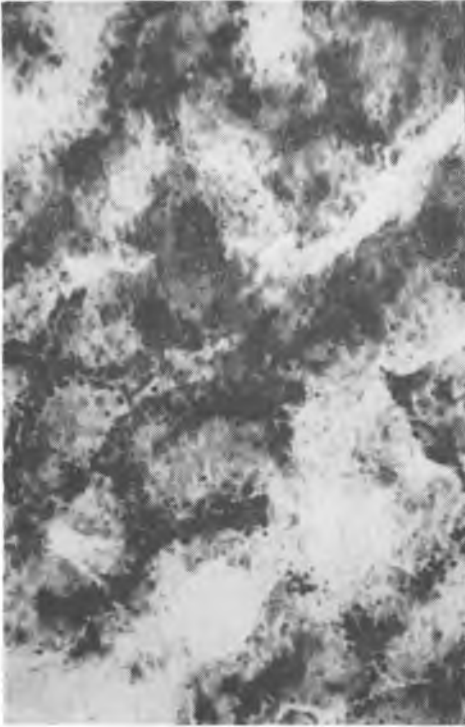
1. Barnts J., Ranta K.: *Toxicology and Applied Pharmacology* **23**, 271—276, 1972.
2. Carata G., Zedda S., Devoto G.: *Folia Medica* **12**, 809—816, 1969.
3. Massman W.: *Brit. J. Industr. Med.* **13**, 51—54, 1956.
4. Potter H., Paoli P.: *Arch. Environ Health* **27**, 340—341, 1973.
5. Wink A.: *Ann. Occup. Hyg.* **15**, 211—215, 1972.
6. Zedde S., Carata G., Casciu G.: *Folia Medica* **12**, 777—783, 1969.
7. Zedde S., Carata G., Casciu G.: *Folia Medica* **12**, 768—776, 1969.

Otrzymano 17 VI 1977.

OBJAŚNIENIA RYCIN

Ryc. 1. Odczyn na aktywność fosfatazy kwaśnej w wątrobie zwierząt kontrolnych. Metoda Gomoriego. Pow. ok. 400X.

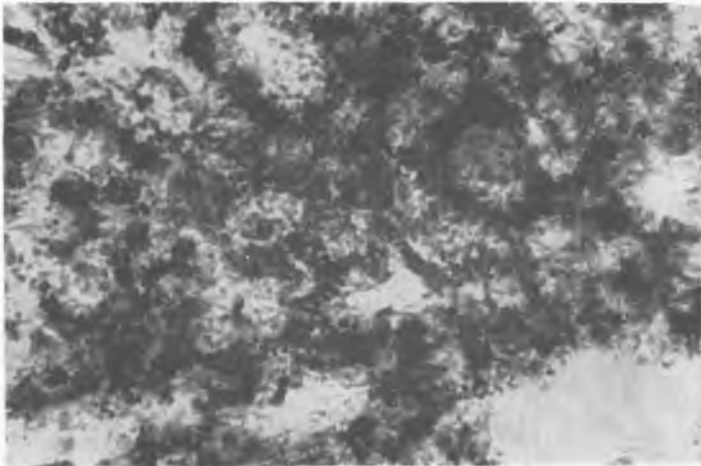
Ryc. 2. Odczyn na aktywność fosfatazy kwaśnej w wątrobie szczura otrzymującego DMF dożołądkowo. Metoda Gomoriego. Pow. ok. 250X.



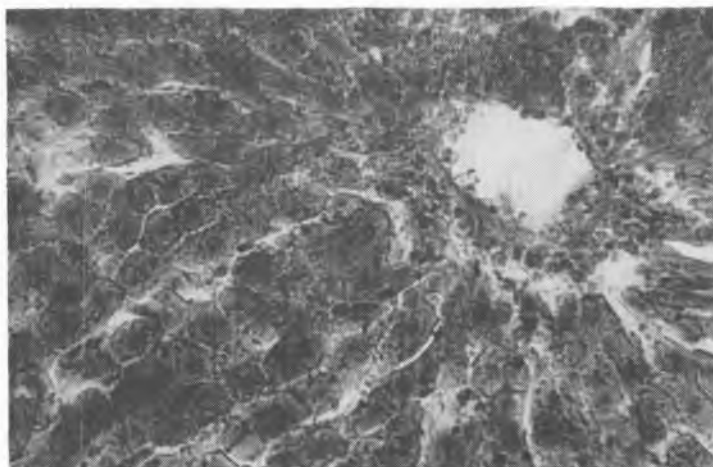
Ryc. 1



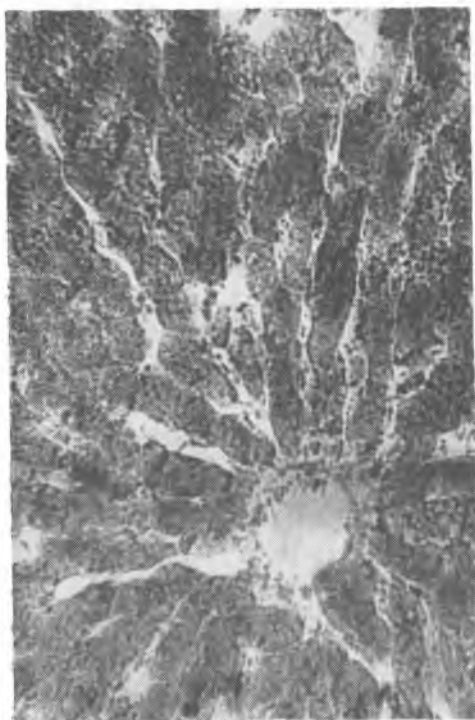
Ryc. 2



Ryc. 3



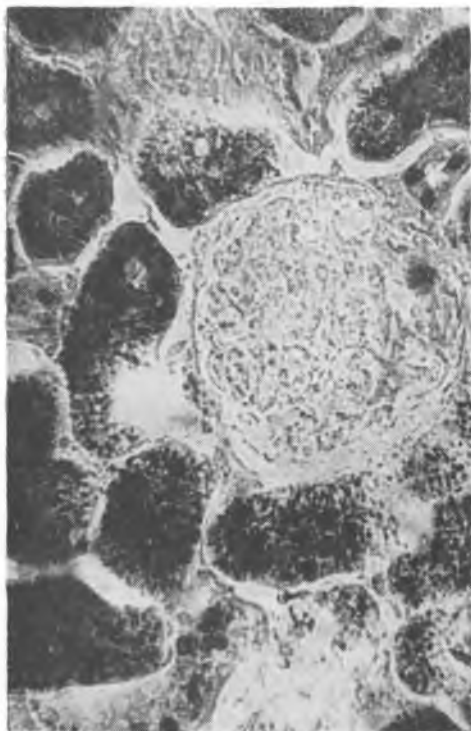
Ryc. 4



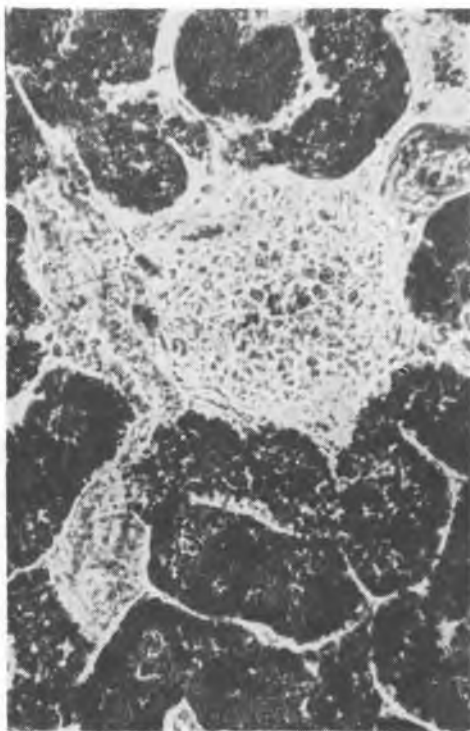
Ryc. 5



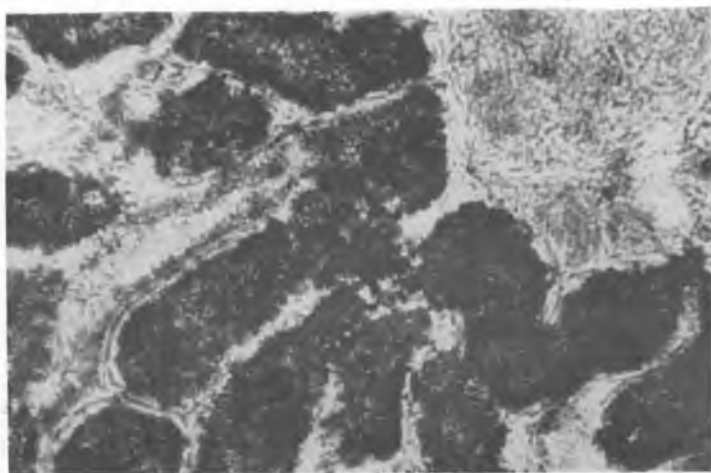
Ryc. 6



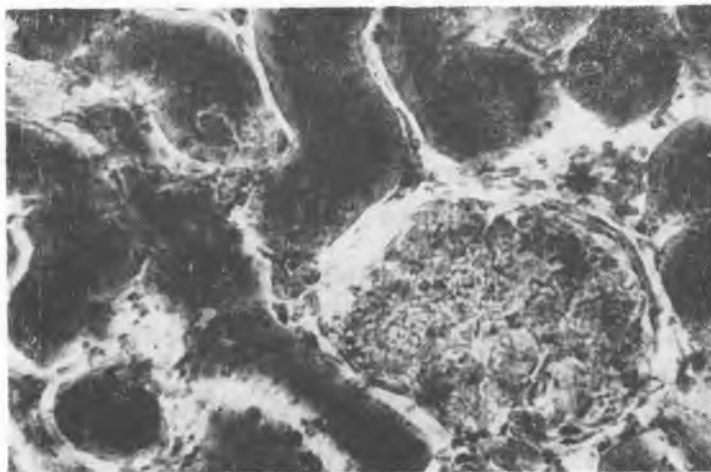
Ryc. 7



Ryc. 8



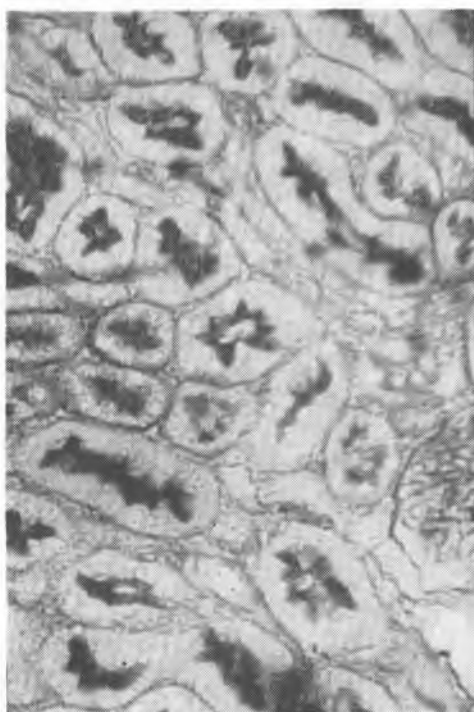
Ryc. 9



Ryc. 10



Ryc. 11



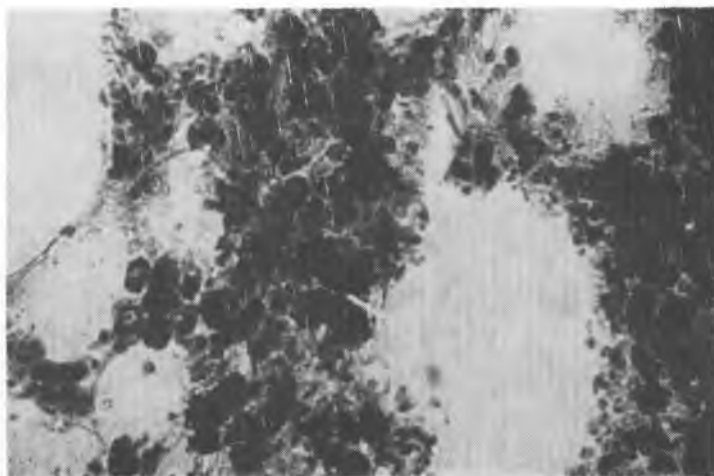
Ryc. 12



Ryc. 13



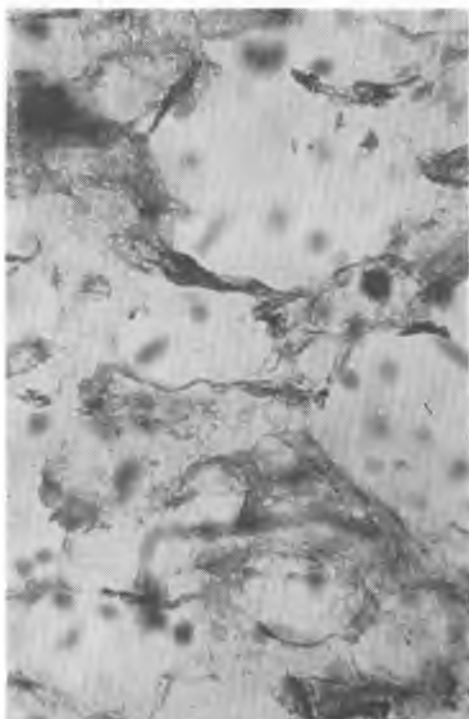
Ryc. 14



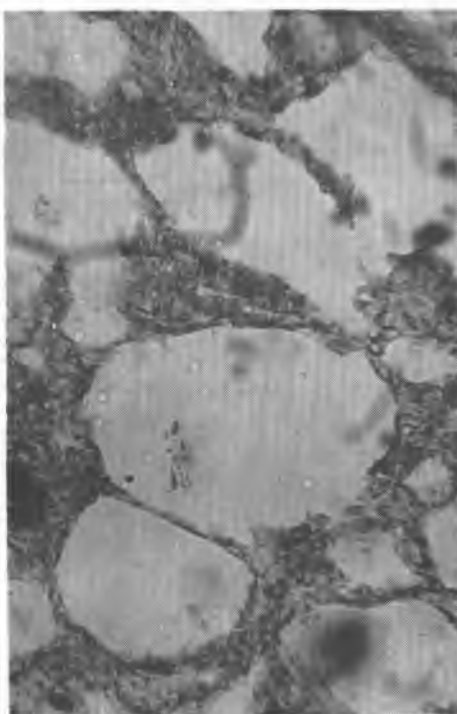
Ryc. 15



Ryc. 16



Ryc. 17



Ryc. 18

Ryc. 3. Odczyn na aktywność fosfatazy kwaśnej w wątrobie szczura, gdy DMF podawany był przez skórę. Metoda Gomoriego. Pow. ok. 250×.

Ryc. 4. Odczyn na aktywność fosfatazy zasadowej w wątrobie szczura kontrolnego. Metoda Gomoriego. Pow. ok. 250×.

Ryc. 5. Odczyn na aktywność fosfatazy zasadowej w wątrobie szczura otrzymującego DMF drogą przewodu pokarmowego. Metoda Gomoriego. Pow. ok. 250×.

Ryc. 6. Reakcja PAS w wątrobie szczura otrzymującego DMF przez przewód pokarmowy. Metoda McManusa. Pow. ok. 300×.

Ryc. 7. Odczyn na fosfatazę kwaśną w nerce szczura kontrolnego. Metoda Gomoriego. Pow. ok. 200×.

Ryc. 8. Odczyn na fosfatazę kwaśną w nerce szczura otrzymującego DMF drogą doustną. Metoda Gomoriego. Pow. ok. 200×.

Ryc. 9. Odczyn na fosfatazę kwaśną w nerce szczura otrzymującego DMF drogą wziewną. Metoda Gomoriego. Pow. ok. 200×.

Ryc. 10. Odczyn na aktywność fosfatazy zasadowej w nerce szczura kontrolnego. Metoda Gomoriego. Pow. ok. 200×.

Ryc. 11. Odczyn na aktywność fosfatazy zasadowej w nerce szczura otrzymującego DMF przez przewód pokarmowy. Metoda Gomoriego. Pow. ok. 200×.

Ryc. 12. Odczyn PAS w nerce szczura kontrolnego. Metoda McManusa. Pow. ok. 200×.

Ryc. 13. Odczyn na aktywność fosfatazy kwaśnej w płucach szczura kontrolnego. Metoda Gomoriego. Pow. ok. 200×.

Ryc. 14. Odczyn na aktywność fosfatazy kwaśnej w płucach szczura otrzymującego DMF drogą wziewną. Metoda Gomoriego. Pow. ok. 200×.

Ryc. 15. Odczyn na aktywność fosfatazy zasadowej w płucach szczura kontrolnego. Metoda Gomoriego. Pow. ok. 200×.

Ryc. 16. Odczyn na aktywność fosfatazy zasadowej szczura otrzymującego DMF drogą wziewną. Metoda Gomoriego. Pow. ok. 200×.

Ryc. 17. Reakcja PAS w płucach szczura kontrolnego. Metoda McManusa. Pow. ok. 200×.

Ryc. 18. Reakcja PAS w płucach szczura otrzymującego DMF drogą wziewną. Metoda McManusa. Pow. ok. 200×.

РЕЗЮМЕ

Автор вызывал острое отравление у крыс, применяя диметилформамид (DMF) через пищеварительный тракт, дыхательную систему и кожу. Самые большие гистохимические изменения установлено в случае, когда DMF вводился в желудок.

SUMMARY

The author caused heavy intoxication in rats with demethylformamid (DMF) introduced through the skin, lungs, and to the stomach. The greatest histochemical changes were observed when DMF was given to the stomach.

EXPLANATION OF FIGURES

Fig. 1. Reaction to acid phosphatase activity in the liver of a control rat. The method of Gomori. Magn. approx. 400×.

Fig. 2. Reaction to acid phosphatase activity in the liver of a rat given DMF orally. The method of Gomori. Magn. approx. 250×.

Fig. 3. Reaction to acid phosphatase activity in the liver of a rat absorbing DMF through the skin. The method of Gomori. Magn. approx. 250×.

Fig. 4. Reaction to alkaline phosphatase activity in the liver of a control rat. The method of Gomori. Magn. approx. 250×.

Fig. 5. Reaction to alkaline phosphatase activity in the liver of a rat given DMF orally. The method of Gomori. Magn. approx. 250×.

Fig. 6. PAS reaction in the liver of a rat given DMF orally. The method of McManus. Magn. approx. 300×.

Fig. 7. Reaction to acid phosphatase activity in the kidney of a control rat. The method of Gomori. Magn. approx. 200×.

Fig. 8. Reaction to acid phosphatase activity in the kidney of a rat given DMF orally. The method of Gomori. Magn. approx. 200×.

Fig. 9. Reaction to acid phosphatase activity in the kidney of a rat inhaling DMF. The method of Gomori. Magn. approx. 200×.

Fig. 10. Reaction to alkaline phosphatase activity in the kidney of a control rat. The method of Gomori. Magn. approx. 200×.

Fig. 11. Reaction to alkaline phosphatase activity in the kidney of a rat given DMF orally. The method of Gomori. Magn. approx. 200×.

Fig. 12. PAS reaction in the kidney of a control rat. The method of McManus. Magn. approx. 200×.

Fig. 13. Reaction to acid phosphatase activity in the lungs of a control rat. The method of Gomori. Magn. approx. 200×.

Fig. 14. Reaction to acid phosphatase activity in the lung of a rat inhaling DMF. The method of Gomori. Magn. approx. 200×.

Fig. 15. Reaction to alkaline phosphatase activity in the lung of a control rat. The method of Gomori. Magn. approx. 200×.

Fig. 16. Reaction to alkaline phosphatase activity in the lung of a rat inhaling DMF. The method of Gomori. Magn. approx. 200×.

Fig. 17. PAS reaction in the lung of a control rat. The method of McManus. Magn. approx. 200×.

Fig. 18. PAS reaction in a rat inhaling DMF. The method of McManus. Magn. approx. 200×.