

Zakład Histologii i Embriologii. Instytut Biologiczno-Morfologiczny. Pracownia Cytologii
Doświadczalnej, Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: prof. dr hab. n. med. Stanisław Grzycki

Józef STASZYC i Ewa KIFER

**Badania histofizjologiczne narządów szczura
znajdujących się pod wpływem Foschloru**

Гистофизиологические исследования внутренних органов белой крысы,
находящейся под действием фосхлора

Histophysiological Research of a Rat's Organs Under the Effect of Foschlor

W walce ze szkodnikami żywności największe znaczenie praktyczne mają

związki chemiczne (Obuchowska i wsp. 1971). Bez względu na ich budowę i pochodzenie nie są one obojętne dla organizmów żywych (Nikonorew, Ludwicki, 1972). Dużą grupę tych związków stanowią preparaty fosforoorganiczne. Do nich zaliczamy Foschlor płynny z Zakładów „Azoty w Jaworznie”. Zawiera on substancję czynną — 50% dwumetylofosfonian 2, 2, 2-trójkloro-1-hydroksyetylu. Preparat ten wiąże we krwi i tkankach esterazę cholinową (Rumps i Faff 1964). Z tych też względów w pracy tej chcemy dokonać próby oceny działania Foschloru i na inne odczyny enzymatyczne.

MATERIAŁ I METODYKA BADAŃ

Badania doświadczalne przeprowadzono na szczurach białych, samicach, o ciężarze ca 250—300 g. Wodny osłodzony roztwór Foschloru (Firmy: Azoty w Jaworznie) podawano sondą do żołądka, w dawkach 25 mg/kg na dobę. Szczury podzielono losowo na 3 grupy. Pierwsza grupa otrzymywała Foschlor przez 9 dni, a druga przez 16. Szczury kontrolne poiono w tym czasie wodą słodzoną (3 ml), która była rozpuszczalnikiem Foschloru w grupach eksperymentalnych.

Zachowanie się szczurów doświadczalnych w czasie podawania Foschloru było różne. Zwykle na siódmy lub dziewiąty dzień, niektóre samice były bardziej osowiałe, a inne wyraźnie traciły apetyt. Większa jednak część zwierząt przypominała osobniki kontrolne. Przed doświadczeniem i w czasie eksperymentu szczury trzymano w tych samych warunkach i żywiono standardową paszą.

Po dekapitacji pobierano wycinki z wątroby, trzustki i nerek i postępując wg metod zalecanych przez Zawistowskiego (1970) utrwalano w płynach Carnoya, Gendra, Bouina i Bakera. Tkanki nie utrwalone krajano na mikrotomie mroźniowym. Wykonano odczyny histochemiczne na obecność kwasów nukleinowych, mukopolisacharydów, adenozynotrójfosfatazy, 5-nukleotyduazy, pirofosfatazy tiamino-

wej, esteraz niespecyficznych, glikozo-6-fosfatazy oraz fosfataz kwaśnej i zasadowej.

BADANIA WŁASNE

Wątroba. Grupy doświadczalne. W porównaniu z materiałem kontrolnym wykonane odczyny na kwasy nukleinowe, mukopolisacharydy oraz enzymy wewnątrzkomórkowe nie wykazywały w rozmieszczeniu i nasileniu wybarwienia zasadniczych różnic. Po 16 dniowym podawaniu Foschloru wzrosła tylko aktywność na fosfatazę kwaśną. Obserwowano tutaj silne reakcje tej hydrolazy w lizosomach, wzdłuż dróg żółciowych wewnątrzrzazikowych (ryc. 1).

Nerki. Grupy doświadczalne. W grupie drugiej odczyny na fosfatazę kwaśną charakteryzowały się znaczną aktywnością w kanalikach głównych, nefronów przyrdzennych (ryc. 2). Cewki zbiorcze natomiast miały odczyny słabo dodatnie lub dyfuzyjne. W tym okresie doświadczenia wyraźną aktywność pirofosfatazy tiaminowej wykazano przede wszystkim w czynnych odcinkach kanalików moczowych (ryc. 3). W części rdzennej nerki reakcji na ten marker nie stwierdzono. Pozostałe badane enzymy nie cechowały się zmiennością aktywności, która wskazywałaby na odchylenia od ogólnie przyjętych norm.

Trzustka. Grupy doświadczalne. W zestawieniu z preparatami kontrolnymi i pierwszą grupą doświadczalną, ziarenka glikogenu zidentyfikowane dimedonem i diastazą układały się nierównomiernie w komórkach pęcherzyków zewnątrzwydzielniczych (ryc. 4). Liczba komórek wykazujących reakcję PAS pozytywną była podobna do materiału porównawczego. Poza tym inne odczyny histochemiczne wykonane na trzustce porównawczej i znajdującej się pod działaniem Foschloru nie zmieniły się w sposób uchwytany.

OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ I WNIOSKI

Do doświadczeń użyliśmy samic, ponieważ są one bardziej wrażliwe na pestycydy od samców (Mizak, 1970). Toksyczność (DL_{50}) Foschloru podawanego per os dla samic wg Rusieckiego (1966) wynosi 560 mg/kg. W naszym eksperymencie zastosowaliśmy 25 mg/kg na dobę, wychodząc z założenia, że taka ilość Foschloru może dostać się do organizmu człowieka, tak poprzez skórę, jak i drogi oddechowe czy też przewód pokarmowy w żywności przy przypadkowym skażeniu (Rusiecki, 1967). Czasokres obserwacji oparliśmy na doniesieniach Życińskiego (1971), mówiących o tym, że związki te nie ulegają procesowi kumulacji i działają na ustrój bezpośrednio.

W grupie doświadczalnej drugiej obserwowaliśmy wzmożenie aktywności Fk tak w wątrobie, jak i w czynnych odcinkach kanalików nefronów. Wiadomo, że ten lizosomalny enzym (Lojda i wsp. 1964) bierze udział w trawieniu nie tylko substancji przedostających się do komórki, ale również i w fagocytozie wewnątrzkomórkowej starzejących się lub uszkodzonych organelli. Wydaje się, że zmiana odczynów tej fosfatazy wskazuje na zaburzenia metabolizmu komórki, które to, występują przed zmianami morfologicznymi (Wachstein, 1955). Potwierdzeniem tego w naszym doświadczeniu jest pobudzenie procesów katabolicznych pirofosfatazy tiaminowej. Z zachowania się tego markera aparatu Golgiego w świetle badań Grzyckiego (1951, 1953), Allena (1963), Staszycy (1966) i innych można wnioskować, że po 16 dniowym podawaniu Foschloru nastąpiło uszkodzenie systemu produkcyjnego komórek gruczołowych badanych narządów. Być może, że reakcja między enzymami a Foschlorem przebiega podobnie jak z esterazą cholinową w dwóch etapach. Następuje wtedy fosforylacja enzymu, a następnie hydroliza sfosforylowanego enzymu (Heath, 1961, Goszczyńska i wsp. 1971). Jeśli druga reakcja przebiega wolno, wówczas enzym ma czas na regenerację. Wykazane natomiast różnice w rozmieszczeniu glikogenu wg Luptona i Mac Manusa (1960) mają wyraźny związek z czynnością hydrolaz.

Wyniki nasze nie pokrywają się w całości z sugestiami Maiera - Bode (1965), Kołodziejczyka (1968) i Wójcika (1972), ponieważ autorzy ci obserwacje swoje przeprowadzili w innych warunkach. Uzyskane obrazy cytochemiczne mogą wskazywać na zatrucie przewlekłe (Davignon, 1965). Do podobnych wyników doszli również Annis i Williams (1953) oraz Połos i Poleckij (1962).

Pomimo tego, że Foschlor uważany jest za jeden z najmniej trujących pestycydów dla organizmu, stwierdzamy, iż w przewlekłych zatruciach wywołuje on zmiany w metabolizmie komórkowym, które prowadzą do destrukcji morfologicznej. Podobnie jak Bernes (1954) wnioskujemy, że związki fosfoorganiczne działają nie tylko na esterazę cholinową, ale również i na inne enzymy wewnątrzkomórkowe.

PIŚMIENNICTWO

1. Allen J. A.: J. Histochem. Cytochem., **11**, 542—552, 1963.
2. Annis B., Williams C.: J. A. M. A., **152**, 594—599, 1953.
3. Bernes T.: Organism. Mond. Sant., Geneve 1954.
4. Davignon L. F., St.-Pierre J., Chares J., Tourangenau F. J.: Canad. Med. Assoc. J., **92**, 597—601, 1965.
5. Goszczyńska K., Styczyńska B.: Roczniki P. Z. H., **22**, 375—380, 1971.

6. Grzycki S.: Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, sec. D. 6, 297—322, Lublin 1951.
7. Grzycki S.: Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, sec. D. 8, 193—231, Lublin 1953.
8. Heath D. F.: Organophosphorus Poissons, Pergamon Press, Oxford 1961.
9. Kagan J.: Gig. i Sanit., 35, 36—41, 1970.
10. Kołodziejczyk A.: Symp. Toksykol. Pol. Tow. Farm., Wrocław 1968.
11. Lojda Z., Ereš B., Pelichowa H.: Histochemie, 3, 428—454, 1964.
12. Lupton C. H., Mc Manus J.: Histochemical Methods in the Study of the Kidney, London 1960.
13. Maier-Bode H.: Verlag Eugen Ulmer, 5, 236—242, 1965.
14. Mizak B.: Wpływ zatrucia związkami fosforoorganicznymi na niektóre wskaźniki biochemiczne zwierząt stałocieplnych. Praca doktorska. Lublin 1970.
15. Nikonarew M., Ludwicki J. K.: Roczniki P. Z. H., 23, 253—257, 1972.
16. Obuchowska J., Cywińska-Smater K.: Roczniki P. Z. H., 22, 25—32, 1971.
17. Połos D. D., Poleckij W. A.: Wietierinaja, 39, 61—67, 1962.
18. Rumps S., Faff J.: Medycyna Pracy, 15, 101—109, 1964.
19. Rusiecki Wł.: Farmacja Polska, 23, 24—30, 1967.
20. Rusiecki Wł.: Toksykologia środków ochrony roślin, PZWŁ, Warszawa 1966.
21. Staszyc J.: Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, sec. D. 21, 61—78, Lublin 1966.
22. Wachstein M.: J. Histochem. Cytochem., 3, 4—9, 1955.
23. Wójcik J.: Roczniki P. Z. H., 3, 365—370, 1972.
24. Zawistowski S.: Technika Histologiczna, PZWŁ, Warszawa 1970.
25. Zyciński D.: Roczniki P. Z. H., 22, 189—194, 1971.

Otrzymano 25 X 1972.

OBJAŚNIENIA DO RYCIN

Ryc. 1. Grupa doświadczalna II. Szczur. Wątroba. Odczyn na Fk w lizosomach. Metoda wg Gomoriego. Pow. ca 400 X.

Ryc. 2. Grupa doświadczalna II. Szczur. Nerka. Odczyn na Fk w nefronach przyrdzennych. Metoda wg Gomoriego. Pow. ca 400 X.

Ryc. 3. Grupa doświadczalna II. Szczur. Nerka. Aktywność na TPP-azę, markera aparatu Golgiego. Metoda wg Novikoffa i Goldfischera. Pow. ca 400 X.

Ryc. 4. Grupa doświadczalna II. Szczur. Trzustka. Rozmieszczenie glikogenu w cytoplazmie komórek zewnątrzwydzielniczych. Barwienie wg m. PAS. Pow. ca 400 X.

РЕЗЮМЕ

Крысам подавался внутрижелудочно при помощи зонда фосфор в дозе 25 мг/кг в сутки в течение 9 и 16 суток. Затем для цитохимических исследований брались печень, поджелудочная железа и почки. Изменения в активности появились прежде всего в реакции на кислую фосфатазу и тиаминовую пирогосфатазу во II экспериментальной группе. Характер этих изменений указывал на повреждение клеточного метаболизма.

Авторы приходят к выводу, что фосфоорганические соединения влияют не только на холинэстеразу, но и на исследованные внутриклеточные ферменты, вызывая повреждение производительной системы.

SUMMARY

The authors administered Foschlor to rats by the use of a stomach pump in doses of 25 mg/kg per 24 hours for a period of 9 and 16 days.

Next they collected the liver, pancrea and kidneys for cytochemical examinations. Changes in the activity occurred first of all in the reactions to acid phosphatase and thiamin pyrophosphatase in the II experimental group. The character of these changes indicated to a change in the cell metabolism.

The authors came to the conclusion that phosphorus-organical connexions do not only effect choline esterase but also the examined intracellular enzymes, damaging the production system.

EXPLANATION OF FIGURES

Fig. 1. Experimental group II. A rat. Liver. Reaction to acid phosphatase in the lysosomes. Gomori's method. enlg. 400 X.

Fig. 2. Experimental group II. A Rat. Kidney. Reaction to acid phosphatase in the medulla nephrons. Gomori's method. enlg. 400 X.

Fig. 3. Experimental group II. A rat. Kidney. Activity to TPPase, Golgi's apparatus mark. Novikoff's and Goldfischer's method. enlg. 400 X.

Fig. 4. Experimental group II. A rat. Pancrea. The distribution of glycogen in the cytoplasm of the extra-secretory cells. Staining according to PAS. Enlg. 400 X.



