

## XVII KONFERENCJA TOKSYKOLOGÓW SĄDOWYCH

Instytut Ekspertyz Sądowych im. Prof. dra Jana Sehna w Krakowie oraz Katedra i Zakład Medycyny Sądowej Akademii Medycznej im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy zapraszają do wzięcia udziału w dorocznym spotkaniu toksykologów sądowych, które odbędzie się w dniach 8-9 czerwca 2000 r. w Pieczyskach k. Bydgoszczy.

### Tematy konferencji:

- Alkohol oraz tek a wypadkowość drogowa
- Doniesienia z bieżących prac badawczych oraz ekspertyz

Prosimy uprzejmie o nadsyłanie zgłoszeń uczestnictwa wraz z tytułami doniesień w nieprzekraczalnym terminie do dnia 31 marca 2000 roku na adres:

**Zakład Toksykologii Sądowej  
Instytut Ekspertyz Sądowych  
ul. Westerplatte 9, 31-033 Kraków**

Jednocześnie prosimy o kontakt telefoniczny pod numerem:

**(012) 422-87-55**

we wszystkich sprawach merytorycznych i organizacyjnych z:

**dr Zofią Chłobowską lub mgr Czesławą Świągą (wew. 150).**

Natomiast we wszystkich sprawach dotyczących pobytu w Pieczyskach k. Bydgoszczy (zakwaterowanie i wyżywienie) prosimy kontaktować się z:

**dr Ewą Pufal  
tel. (052) 341-12-49**

**Stefan Szram, Krystyna Bielnik, Krzysztof Trojanowski,  
Dariusz Młoczowski, Piotr Wołkanin**

### Analiza morfologiczna mikroskopowo-światlna i elektronowa zmian w wątrobie w przewlekłej intoksykacji glikolem etylenowym

#### Light and electron microscopic morphological analysis of changes in liver in long-term ethylene glycol intoxication

Z Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej AM w Łodzi

Kierownik: prof. dr hab. med. S. Szram

Z Pracowni Patologii Ultrastrukturalnej Zakładu Patomorfologii Klinicznej WAM  
w Łodzi

Kierownik: prof. dr hab. med. K. Zieliński

Autorzy postanowili zbadać, czy przewlekła intoksykacja glikolem etylenowym powoduje podobne zmiany jak ostre zatrucie i czy mają one charakter odwracalny. Doświadczenie przeprowadzono na szczurach, którym podawano 1,25% roztwór glikolu etylenowego. Wycinki z wątroby badano w 12, 14, 16 tygodniu doświadczenia. W mikroskopie świetlnym ujawniono w wątrobie zwyrodnienie glikogenowe i różnie nasiloną martwicę rozptylną hepatocytów. W mikroskopie elektronowym uszkodzenia dotyczyły głównie siatki śródplazmatycznej, mitochondriów a także wykładników zaburzenia syntezy kwasów nukleinowych, czego wyrazem były zmiany w strukturze jąder hepatocytów. Obserwowane uszkodzenia organelli w hepatocytach mogą mieć w większości charakter odwracalny chociaż zmiany w jądrach mogą rzutować na gotowość odnowy komórek wątrobowych.

The authors decided to investigate whether long-term ethylene glycol intoxication can cause similar changes to those in acute poisoning and whether they are of reversible nature. Experiments were carried out in rats which were administered 1,25% solution of ethylene glycol. Liver specimens were examined at 12, 14, 16 weeks of the experiment. Light microscope analysis revealed glycogenic degeneration in the liver and variously intensified colliquative necrosis of hepatocytes. In the electron microscope the lesions concerned were mainly in the intraplasmatic network and in mitochondria and also exponents of nucleic acid synthesis which resulted in changes in hepatocyte nucleic structure. The observed lesions of organelles in hepatocytes may mostly be of reversible nature. However, changes in the nuclei may affect readiness of liver celi regeneration.

Słowa kluczowe: morfologia, ultrastruktura wątroby, glikol etylenowy, przewlekła intoksykacja

**Key words: morphology, liver ultrastructure, ethylene glycol, chronic intoxication**

Glikol etylenowy (GE) jako związek dwuwodorotlenowy jest silnie toksycznie działającym alkoholem. Wywołuje on wg. Imazu i wsp. (18) zaburzenia enzymatyczne w wątrobie, głównie w enzymach metabolizujących leki. Związek ten, podobnie jak przeważająca większość substancji hepatotoksycznych ujawnia swoje działania uszkodzające dopiero w następstwie przemian metabolicznych jakim ulega w hepatocytach. Według Zimmermana (39) związki te są właściwie prehepatotoksynami, które ulegają aktywacji w komórce wątrobowej najczęściej na drodze procesów oksydacyjnych przy udziale cytochromu P-450.

Większość doniesień analizuje obraz morfologiczny wątroby w ostrym zatruciu (1, 2, 3). Ujawniają one, że obserwowane zmiany mają charakter odwracalny a wykonane badania czynnościowe ujawniają całkowity powrót funkcji metabolicznych narządu.

Celem badań było wykazanie czy przewlekła intoksykacja glikolem etylenowym powoduje ten sam typ uszkodzenia hepatocyta oraz czy obserwowane zmiany mogą mieć charakter odwracalny.

## MATERIAŁ I METODY

Doświadczenie przeprowadzono na 80 szczurach (40 samcach i 40 samicach wsobnego szczepu Wistar, w wieku 5 miesięcy o masie ciała 150-180 g. Zwierzęta podzielono na dwie grupy: doświadczalną (D) - 60- zwierząt i kontrolną (K) - 20 zwierząt. Zwierzęta grupy D otrzymywały paszę granulowaną Murigran oraz roztwór glikolu etylenowego o stężeniu 1,25% w postaci płynu do picia. Zwierzęta grupy K otrzymywały Murigran oraz wodę pitną w dowolnej ilości. Stężenie glikolu etylenowego zostało ustalone we wstępnym badaniu pilotowym. Szczury uśmiercano przez otwarcie klatki piersiowej w uśpieniu ogólnym eterowym w 12, 14 i 16 tygodniu doświadczenia (tabl. 1). W czasie trwania eksperymentu padło łącznie 21 szczurów grupy D w tym głównie w przedziale 10 - 12 tygodni trwania eksperymentu. W czasie autopsji każdego zwierzęcia pobierano wycinki z lewego płata wątroby. W przypadku badań mikroskopowo-elektronowych (ME) z wątroby pobierano wycinek o wielkości 1x1 mm i natychmiast utrwalano go w 3,6% glutaraldehydzie w 0,13 M buforze kakodylanowym o pH 7,2. Po dotrwaleniu w 2% wodnym roztworze czterotlenku osmu materiał zatapiało w eponie. Preparaty krojono ultramikrotomem LKB-5, siatki kontrastowano w automacie Ultrastain (LKB) i oceniano w mikroskopie elektronowym 10 CR Zeiss Opton. Wycinki do badań w mikroskopie świetlnym utrwalano w 7% roztworze zobojętnionej formaliny. Materiał tkankowy opracowano klasyczną techniką parafinową w procesorze tkankowym Hypocenter (SHANDON), bloczki krojono na skrawki grubości 4 μm. Preparaty barwiono hematoksyliną i eozyną wykonano odczyn PAS wg McManusa z trawieniem

diastazą oraz srebrzono według metody Gomoriego a preparaty z materiału mroźkowego barwiono na tłuszcze z zastosowaniem Oil Red.

## WYNIKI I OMÓWIENIE

Ocena materiału doświadczalnego w mikroskopie świetlnym.

### 12 tydzień doświadczenia

Analiza mikroskopowo-świetlna wycinków z wątroby, wykazała, że przeważająca część hepatocytów miała rozrzedzoną cytoplazmę, w większości ziarnistą wykazującą lekką kwasochłonność. W porównaniu do obrazów grupy kontrolnej była ona wyraźnie zepchnięta do strefy bliżej błony komórkowej z pozostawieniem pustych, nie zabarwionych miejsc dookoła jądra (ryc. 1). W tych obszarach w preparatach z wykonanym odczynem PAS wg McManusa ujawniono ziarnistości dające dodatni odczyn i znikające w preparatach trawionych diastazą. Obserwowane wyżej zmiany były jednakowo rozmieszczone w poszczególnych strefach zrazika, ponadto spostrzegano grupy hepatocytów, których cytoplazma była albo ujednostajniona i zagęszczona, albo też jednorodnie kwasochłonna. Jądra tych hepatocytów były bądź piknotyczne bądź ulegały lizie. Dookoła tych ognisk spostrzegano liczne komórki Browicza-Kupfera i granulocyty obojętnochłonne a dodatkowo pomnożenie zrębu retikulinoowego. Obecność obszarów martwicy nie była związana ze strefowością zrazika. W pozostałych hepatocytach jądra były bądź jasne z gruboziarnistą chromatyną grupującą się blisko błony jądrowej co dawało wrażenie wakuolizacji jądra bądź też widoczne były jednostajnie ciemne jądra o gęstych, grubych ziarnach chromatyny równomiernie rozłożonych w całym obszarze jądra.

### 14 tydzień doświadczenia

Badaniem mikroskopowym stwierdzono, że charakter zmian morfologicznych nie uległ zmianie a jedynie ich nasilenie było większe. Dotyczy to szczególnie zmian obserwowanych w cytoplazmie gdzie stopień nasilenia wakuolizacji przyjądrowej jak również natężenie odczynu PAS w tej strefie było wyraźnie większe aniżeli u zwierząt po 12 tygodniach intoksykacji. Nie wykazano natomiast zwiększenia u tych zwierząt ognisk martwicy.

### 16 tydzień doświadczenia

W wycinkach z wątroby tych zwierząt wykazano dalsze nasilenie zmian w zakresie cytoplazmy hepatocytów. Charakter tych zmian był identyczny jak w poprzednich grupach. Dodatkowo ujawniono u wszystkich szczurów zwiększenie ilości tkanki łącznej w strefie wrotnej bez odczynu komórkowego. Stopień nasilenia martwicy jak i jej rozmieszczenie było podobne do obserwowanego w poprzedniej grupie doświadczalnej (ryc. 2).

Ocena materiału w mikroskopie elektronowym

### 12 tydzień doświadczenia

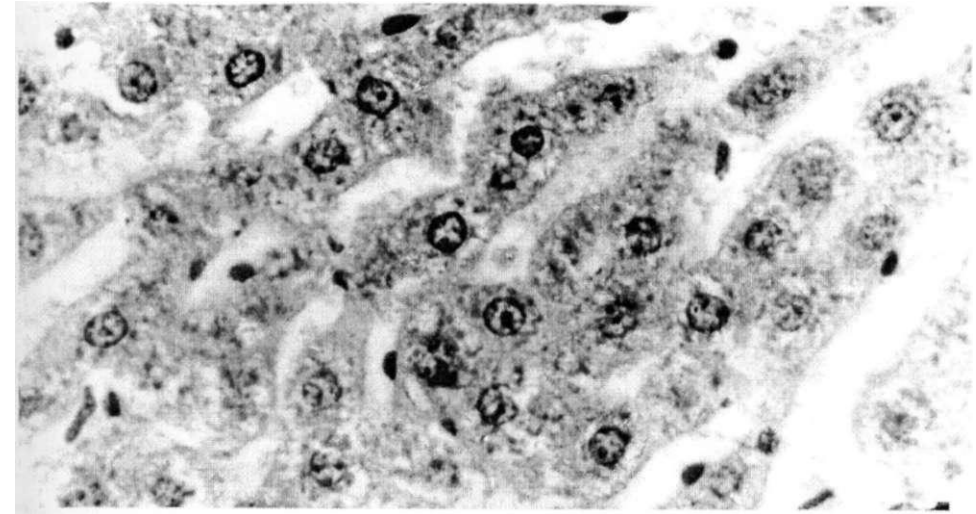
Przeprowadzona analiza elektronogramów preparatów tkankowych z wątroby ujawniła, że w obrębie komórki wątrobowej zwiększa się ilość gładkiej siatki śródplazmatycznej a jej kanały ulegają wyraźnemu poszerzeniu (ryc. 3). Obserwuje się to we wszystkich analizowanych hepatocytach niezależnie od strefy zrazika. Dodatkowo w tak zmienionych komórkach spostrzegano znamienne zwiększenie się ilości mitochondriów ujawniających rozpad grzebieni z ogniskowym rozjaśnieniem macierzy. Tym zmianom towarzyszyło również pojawienie się dużych elektronowo pustych wakuoli zlokalizowanych często w strefie brzeżnej oraz figur mielinowych usytuowanych głównie w obszarach bieguna kanalikowego (ryc. 4). We wszystkich hepatocytach spostrzega się wyraźnie większe aniżeli w grupie zwierząt kontrolnych nagromadzenie glikogenu w postaci różnej wielkości rozet (ryc. 5). W tak zmienionych hepatocytach stwierdzono obok zwiększenia się liczby peroksysomów wyraźnie uchwytne zmiany w strukturze jądra. Miały one zwykle nieregularne obrysy i dominowały jądra o charakterze euchromatynowym. Sama chromatyna uległa marginalizacji, wykazano zwiększenie się liczby ziarnistości perichromatynowych i interchromatynowych, które zwykle były widoczne w niewielkich skupiskach (ryc. 6). We wszystkich hepatocytach jąderka były słabo widoczne a tylko sporadycznie spostrzegano zmiany o typie „nuclear bodies” i „coiled bodies” (ryc. 7). We wszystkich elektronogramach spostrzegano nadmierne poszerzenie kanalików żółciowych z wyraźnie zgrubiałymi wpuklającymi się do światła kosmkami.

### 14 tydzień doświadczenia

W analizowanych elektronogramach zwierząt doświadczalnych stwierdzono, że zmiany ultrastruktury hepatocyta były podobne jak to opisano w poprzedniej grupie przy czym natężenie ich było wyraźnie większe. Dodatkowo stwierdzono ogniskowy rozpad i fragmentację błony mitochondrialnej (ryc. 8). A uformowane ze zniszczonych mitochondriów figury mielinowe spotyka się nie tylko w cytoplazmie lecz również w świetle kanalików żółciowych i przestrzeni okołonaczyniowej. Zwiększeniu ulega ilość rozet glikogenu chociaż ich rozmieszczenie w komórce jest identyczne jak w poprzedniej grupie. Chromatyna jądrowa w badanych hepatocytach staje się bardziej ziarnista lecz nadal nie formuje jąderka. Same jądra nie są powiększone. Mają one wciąż charakter jąder euchromatynowych i nie stwierdza się w nich już „nuclear bodies” i „coiled bodies” (ryc. 9). Światło kanalików żółciowych ulega dalszemu poszerzeniu a kosmki wpuklające się do światła są bardzo grube.

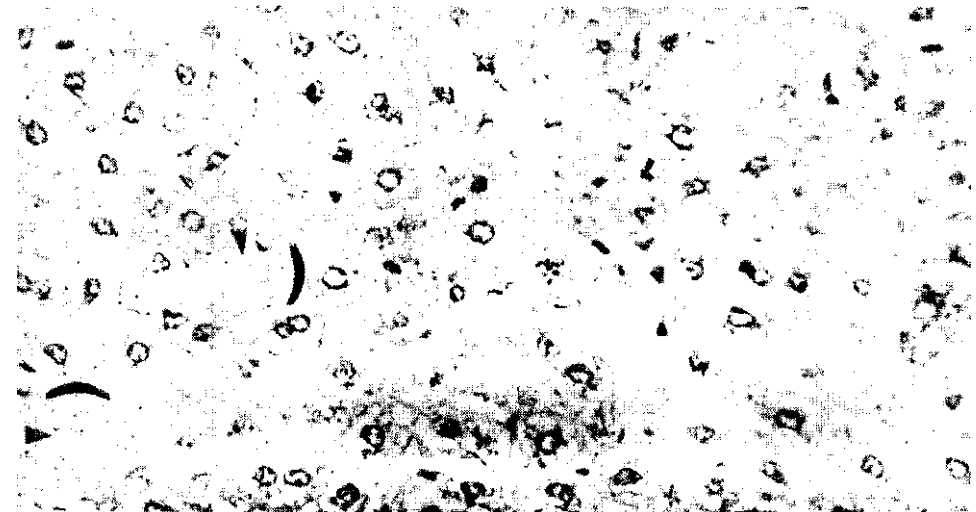
### 16 tydzień doświadczenia

Ocena ultrastrukturalna hepatocytów zwierząt uśmierconych w 16 tygodniu doświadczenia ujawniła dalszy postęp zmian w substrukturze tych komórek. Same jądra komórek wątrobowych zwiększają swoją wielkość a chromatyna w postaci grubych ziarnistości zagęszcza się na obwodzie błony jądrowej.



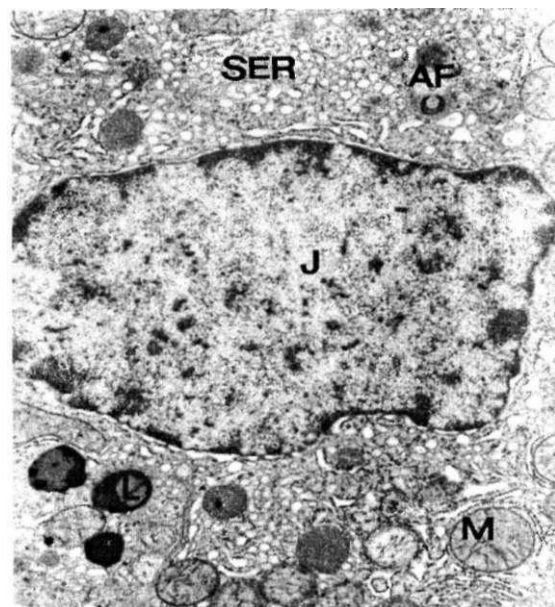
Ryc. 1. Wycinek wątroby szczura grupy porównawczej. Zachowana struktura hepatocytów. Pow. 400 x Barw. HE.

Fig. 1. Comparative group rat liver specimen. Hepatocyte structure preserved. Enl. 400x. Stain. HE.



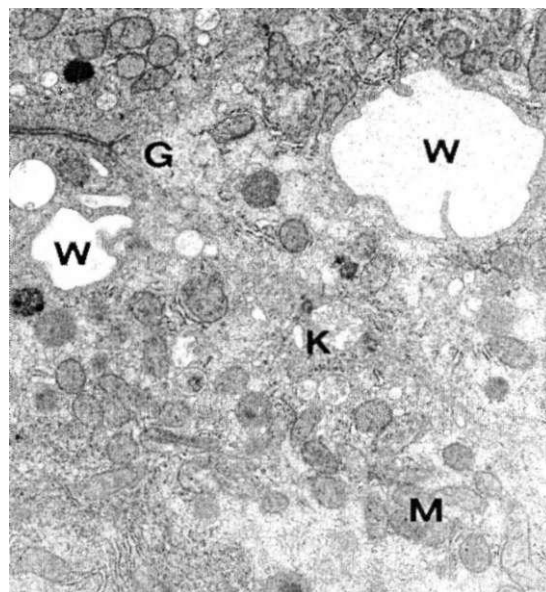
Ryc. 2. Wycinek z wątroby szczura grupy doświadczalnej - 12 tydzień intoksykacji. Puste przestrzenie w cytoplazmie hepatocytów. Ognisko pola martwicy hepatocytów. Pow. 200 x. Barw. HE.

Fig. 2. Experimental group rat liver specimen - 12 weeks of intoxication. Empty spaces hepatocyte cytoplasm. Focus of hepatocyte necrosis area. Enl. 200x. Stain. HE.



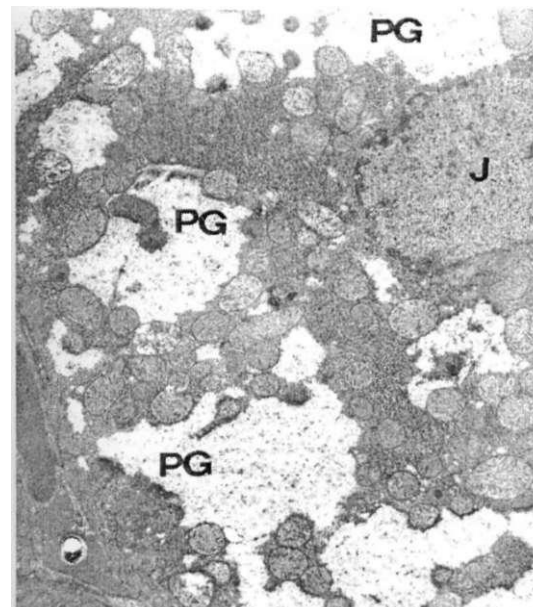
Ryc. 3. Elektronogram wątroby szczura grupy doświadczalnej z 12 tygodni intoksykacji. Widoczna proliferacja i poszerzenie kanałów gładkiej siatki śródplazmatycznej (SER), obecność autofagosomów (AF) i liczne ziarenka lipofuscyny (L). Pow. 10 000x.

Fig. 3. Experimental group rat liver electronogram at 12 weeks of intoxication. Observed proliferation and smooth endoplasmic reticulum (SER) canals numerous granules of lipofuscin (L). Enl. 10 000x.



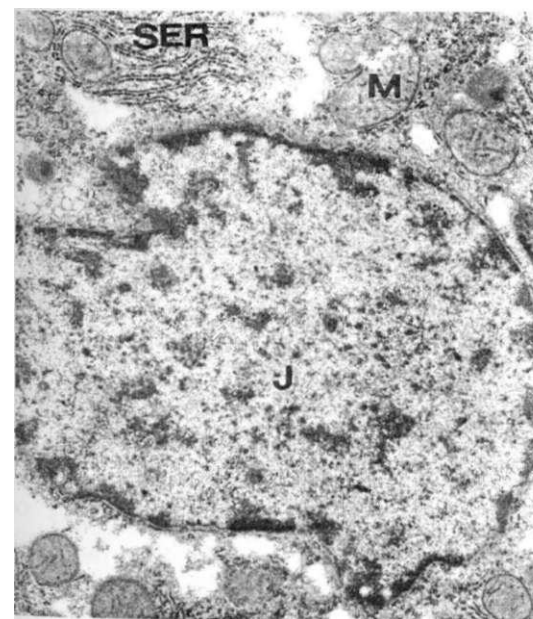
Rys. 4. Elektronogram wątroby grupy doświadczalnej. Liczne jasne wakuole w cytoplazmie (W) w okolicy bieguna kanalikowego hepatocytów (K). Złogi glikogenu w cytoplazmie (G). Pow. 10 000x.

Fig. 4. Experimental group liver electronogram. Numerous clear vacuoles in cytoplasm (W) in the area of hepatocyte tubular pole (K). Glycogen deposits in cytoplasm (G). Enl. 10 000x.



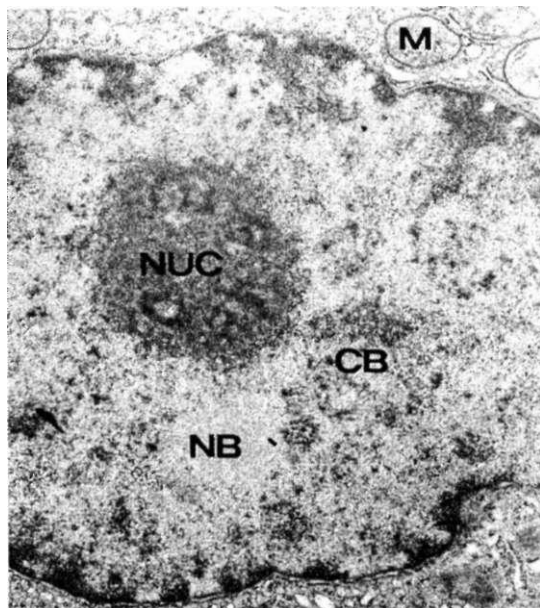
Ryc. 5. Elektronogram z wątroby szczura grupy doświadczalnej. Liczne pola glikogenowe w cytoplazmie hepatocytów (PG). Pow. 8 000 x.

Fig. 5. Experimental group rat liver electronogram. Numerous glycogen areas in hepatocyte cytoplasm (PG). Enl. 8 000x.



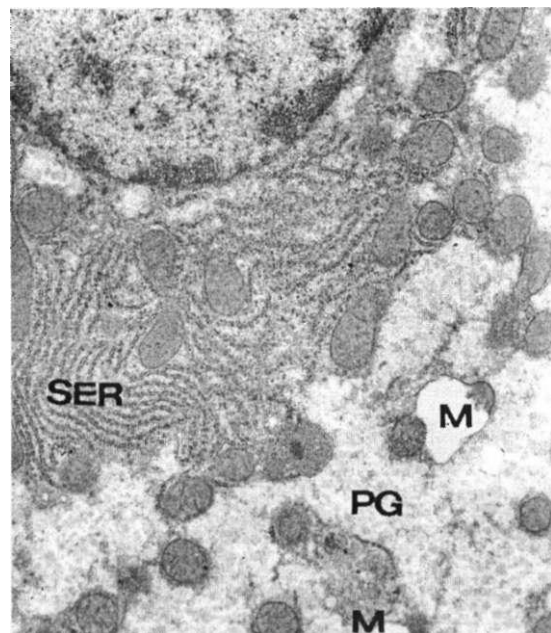
Ryc. 6. Elektronogram wątroby szczura grupy doświadczalnej w 12 tygodnia intoksykacji. Marginalizacja chromatyny jądrowej ze zwiększeniem liczby ziarnistości peri- i interchromatynowych w jądrze (J). Rozbudowana szorstka część siatki śródplazmatycznej (SER). Pow. 12 000 x.

Fig. 6. Experimental group rat liver at 12 weeks of intoxication. Nuclear chromatin marginalisation with increased number of peri- and interchromatin granules in nucleus (J). Complex rough endoplasmic reticulum (SER). Enl. 12 000x.



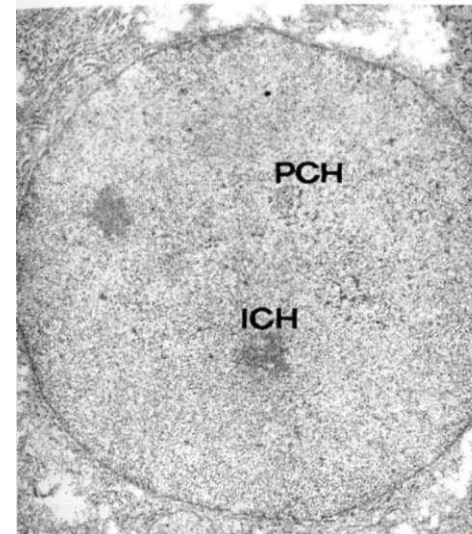
Ryc. 7. Elektronogram jądra hepatocytu szczura grupy doświadczalnej. Obok dużego jąderka (NUC) widoczne zmiany typu „nuclear bodies” (NB) i „coiled bodies” (CB). Pow. 20 000 x.

Fig. 7. Experimental group rat hepatocyte nucleus electronogram. Next to the large nucleolus visible changes of 'nuclear bodies' (NB) and 'coiled bodies' (CB) nature. Enl. 20 000x.



Ryc. 8. Obraz mikroskopowo elektronowy hepatocytu zwierzęcia grupy doświadczalnej z 14 tygodnia intoksykacji. Ogniskowy rozpad mitochondriów (M) z masywnym nagromadzeniem rozetek glikogenu (PG). Pow. 10 000 x.

Fig. 8. Experimental group rat hepatocyte electron-microscopic picture at 14 weeks of intoxication. Focal mitochondria (M) decomposition with massive accumulation of glycogen rosettes (PG). Enl. 10 000x.



Ryc. 9. Elektronogram jądra hepatocytu o chromatynie ziarnistej z formowaniem niewielkich skupisk ziarnistości perichromatynowych (PCH) i inter-chromatynowych (ICH). Wycinek z wątroby szczura grupy doświadczalnej. Pow. 20 000 x.

Fig. 9. Electronogram of hepatocyte nucleus with granular chromatin with the formation of small perichromatin (PCH) and interchromatin (ICH) granules clusters. Experimental group rat liver specimen. Enl. 20 000x.

Analizie poddano również materiał z wątroby zwierząt padłych. Najwięcej ich ujawniono w przedziale 10-12 tygodnia podawania GE. Przed zgonem były one apatyczne, senne i ujawniono u nich paraliż tylnych łap oraz spowolnienie oddechu. Przeprowadzone badania w mikroskopie świetlnym wykazały, że charakter zmian był podobny do obserwowanego w grupach doświadczalnych a jedynie martwica rozplywna hepatocytów i ich zwyrodnienie glikogenowe były wyraźniejsze.

Przeprowadzone badania morfologiczne ujawniły, że obraz mikroskopu optycznego dostarcza jedynie skąpych informacji o procesach zachodzących w hepatocycie przy przewlekłym zatruciu GE. Ocena mikroskopowa wycinków w badaniach histopatologicznych ujawniły głównie dwa typy zmian, które nasilały się w czasie trwania doświadczenia. Wykładnikami ich było zwyrodnienie glikogenowe i rzadziej obserwowana martwica przeważnie rozplywna hepatocytów. Dopiero ocena mikroskopowo-elektronowa hepatocytów pozwoliła prześledzić proces uszkodzenia i odniesienie zmian subkomórkowych do procesów detoksykacji zachodzących w wątrobie.

## DYSKUSJA

Przeprowadzone badania wykazały, że w przebiegu przewlekłej intoksykacji glikolem etylenowym dochodzi w wątrobie do wyraźnych uchwytów uszkodzeń substruktur komórkowych. Badania Blaira i Vallae (4), Gessnera i wsp. (14) oraz von Wartburga i wsp. (34) wykazały, że metabolizm glikolu etylenowego w wątrobie wiedzie przez jego utlenienie z udziałem dehydrogenazy alkoholowej do aldehydu glikolowego. Powstały aldehyd w wyniku dalszych przemian zostaje utleniony do gliksanu z udziałem dehydrogenazy mleczanowej lub oksydazy



kwasu glikolowego (29), a dalej do kwasu szczawiowego (38). W następstwie tych procesów ulega zaburzeniu równowaga kwasowo-zasadowa i pojawia się silna kwasica metaboliczna. Wzrasta stężenie jonów wodorowych w płynach ustrojowych, szczególnie w wodnej przestrzeni śródkomórkowej. Posiada to decydujący wpływ na aktywność niektórych enzymów, wpływających na zmianę reakcji a niekiedy doprowadza nawet do zmiany kierunku torów metabolicznych.

Morfologicznym wykładnikiem przemian biochemicznych zachodzących w pierwszym etapie procesu odtruwania jest proliferacja gładkiej siatki śródplazmatycznej (SER) w komórkach wątrobowych, która przebiega z poszerzeniem kanalików (18). SER jest bowiem związana z procesami hydroksylacji glikolu etylenowego i cechę tę dostrzegaliśmy również w naszych badaniach. W obrębie SER odbywa się także glikogenoliza i glikogenoneogeneza oraz detoksykacja. Jak wykazały badania Brzozowskiego (6) i Yonga (36) z siatką śródplazmatyczną powiązany jest system oksydaz, które współdziałając z cytochromem P-450 lub jego subformą (CYP2E1) są szczególnie aktywne w przemianach GE. Spadek pH obniża aktywność fosfofruktonidazy, co prowadzi do spadku glikogenolizy i uruchomienia procesów glikogenoneogenezy. Uaktywnienie tych procesów wiedzie do zwyrodnienia glikogenowego hepatocyta, co tak dobitnie wykazano zarówno w badaniach w mikroskopie świetlnym jak i elektronowym.

W świetle powyższych danych zrozumiałą staje się brak stłuszczenia hepatocytów. Wiadomo, że mechanizm gromadzenia tłuszczów w hepatocytach w toku kwasicy jest w głównej mierze hamowany spadkiem pH, który nie tylko wzmacnia wydzielanie amin katecholowych działających lipolitycznie ale także wydzielanie hormonu wzrostu i 17-OH-steroidów, które mają wpływ na ogólny bilans lipidowy ustroju.

W czasie przemian oksydacyjnych jakim ulega GE i efektów toksycznych jakie powoduje on w hepatocytach dochodzi do uruchomienia mechanizmów związanych nie tylko z reakcją katalizowaną przez dehydrogenazę alkoholową ADH (7). Badania ostatnich lat wykazały, że glikol etylenowy może być również metabolizowany do formaldehydu. W czasie tych reakcji dochodzi do uwolnienia nadtlenu wodoru o znanym potencjale uszkodzającym (8). W tej reakcji istotny udział ma cytochrom P-450 (35, 36) a zwłaszcza jego subformą CYP2E1 (10). Enzym ten według szeregu autorów (24, 27, 33) jest zlokalizowany w gładkiej siatce śródplazmatycznej gdzie wchodzi w skład kompleksu enzymatyczno-lipidowego określanego zazwyczaj jako mikrosomalne monoooksygenazy. Dotychczas nie wyjaśniono w pełni w jaki sposób enzym CYP2E1 rozczepia tlen cząsteczkowy a także na jakiej drodze powstają wysoce aktywne rodniki tlenowe w procesie utleniania GE. Przypuszcza się, że anion nadadtlenkowy powstający w warunkach zwiększonego napływu GE do hepatocyta, może być odpowiedzialny za niektóre następstwa toksycznego działania GE i wystąpienia tzw. szoku tlenowego (13). Kuthan i wsp. (19, 20) oraz Nakamura i wsp. (26) uważają że udział wolnych rodników w patologii zmian wywołanych glikolem etylenowym jest znaczny. Związki te prowadzą również do destrukcji DNA, mRNA i rRNA. Przeprowadzone i przez nas badania jakościowe, a zwłaszcza ilościowe, potwierdziły te spostrzeżenia (32). Wykazaliśmy, że większość jąder ulega transformacji do postaci euchromatynowych z zanikiem jąderka i rozproszeniem chromatyny jądrowej. W kilku elektronogramach w jądrze stwierdziliśmy

występowanie ciałek jąderkowych. Pojawienie się tych struktur autorzy wiążą z zaburzeniem syntezy RNA (12, 17, 31). W jądrze dodatkowo wykazaliśmy gromadzenie ziarnistości perichromatynowych jako wykładnika hamowania transportu RNA do cytoplazmy (30). Toksyczne oddziaływanie GE na metabolizm kwasów nukleinowych w jądrze hepatocyta ma wg Masumi i wsp. (23) wyrażać się również poszerzeniem przestrzeni pomiędzy zewnętrzną i wewnętrzną otoczką jądra (9) oraz degranulacją otoczki (5).

Wśród struktur hepatocyta bardzo wrażliwych na działanie aktywnych form tlenu wymienia się zwykle mitochondria gdyż około 90% tlenu metabolizowanego jest w tych organellach. W naszym doświadczeniu wielokrotnie znajdowaliśmy dowody uszkodzenia tych substruktur pod postacią ich obrzmienia, fragmentacji grzebieni, z występowaniem licznych wakuoli w macierzy z pękaniem i fragmentacją błony mitochondrialnej. Pojawienie się figur mielinowych, a także autofagolizozomów, ciałek wielopęcherzykowych i pojedynczych ciałek gęstych w hepatocytach poddanych przewlekłemu działaniu GE są wynikiem aktywacji hydrolaz lizosomalnych przez kwasicę oraz kwaśne produkty degradacji GE (21). Niezwykle istotnym było stwierdzenie poszerzenia i proliferacja kanalików żółciowych, co najprawdopodobniej wiązać należy z zaburzeniami tworzenia i wydzielania kwasów żółciowych. Stwierdzany w tych przypadkach wzrost stężenia kwasów żółciowych w surowicy krwi jest z jednej strony skutkiem działania cholestazy wewnątrzwątrobowej, a z drugiej nasilonej degradacji cholesterolu przez zawarte w peroksysomach enzymy (11, 15, 16). Wysokie stężenie kwasów żółciowych w komórce wątrobowej posiada działanie hepatotoksyczne wiodące do rozpuszczenia niektórych błon komórkowych (22, 25, 28).

## WNIOSKI

Przeprowadzone badania mikroskopowo świetlne i elektronowe wykazały, że przewlekła intoksykacja glikolem etylenowym powoduje w wątrobie częściowo odwracalne uszkodzenie substruktury hepatocytów.

Nasilenie i charakter zmian uszkodzających w wątrobie nie są niezależne od lokalizacji hepatocyta w zraziku a jedynie od czasokresu intoksykacji.

Ujawnione zmiany w obrębie jądra komórkowego w przebiegu przewlekłego zatrucia glikolem etylenowym pozwalają wysunąć stwierdzenie iż związek ten może zaburzyć odnowę hepatocytów.

## PIŚMIENNICTWO

1. Andrzejewski A., Długosz J.: Ultrastrukturalne zmiany w wątrobie szczurów we wczesnych okresach ostrego doświadczonego zapalenia trzustki, Pol. Tyg. Lek, 1991, 50-52: 989. - 2. Beasley V. R., Buck W. R.: Acute ethylene glycol toxicosis: a review. Vet. Hum. Toxic, 1980, 23: 43. - 3. Bielnik K.: Badania nad morfologicznymi wykładnikami uszkodzenia mięśnia serca w ostrym doświad-

czalnym zatruciu glikolem etylenowym. WAM - Łódź, 1990. Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych. - 4. Blair A. H., Vallae B. L.: Some catalytic properties of human liver alcohol dehydrogenase. *Biochemistry*, 1966, 5: 2026. - 5. Brasch K., Ochs R.: Nuclear bodies (NBs): a newly "rediscovered" organelle. *Exp. Cell Res.*, 1992, 202: 211. - 6. Brzozowski R.: Choroby wątroby i dróg żółciowych. PZWL. Warszawa 1991. - 7. Clay K. L., Murphy R. C.: On the metabolic acidosis of ethylene glycol intoxication. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1977, 39: 39. - 8. Clejan L. A., Cedrebaum A. I.: Oxidation of pyrazole by reconstituted system containing cytochrome P-450. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1990, 1034: 233. - 9. David H.: The hepatocyte. *Experimental pathology. Inst. of Pathology. Department of Electron Microscopy, Humboldt University. Suppl. II. Veb G. Fischer Verlag. Jena-Berlin. 1985.* - 10. Delet-Beluche I., Boulene X., Fabre G., Maurel P., Bonfils C.: Purification of two cytochrome P-450 isozymes related to CYP2A and CYP3A gene families from monkey (Baboon, *Papio papio*) liver microsomes. Cross reactivity with human forms. *Eur. J. Biochem.*, 1992, 204(2): 641.

11. Fahimi H. D., Sies H.: Aldehyde dehydrogenase in mammalian peroxisomes. In: *Peroxisomes in biology and medicine.* Springer Verlag. Berlin-Heidelberg, 1987: 244. - 12. Faustini A., Arpala F., Pagiarella P., Forastiere F., Papini P., Perucci C. A.: Monotoraggio delle cholinesterasi in lavoratori agricoli e commercianti fosforici esteri e carbammati. *Med. Lav.*, 1992, 83(2): 135. - 13. Fridovich I.: Oxygen radicals, hydrogen peroxide and oxygen toxicity. In: *Free radicals in biology.* Ed.: W. A. Pryor. Academic Press, N. York, 1976: 249. - 14. Gessner P. K., Parkę D. V., Williams R. T.: Studies in detoxification 86. The metabolism of 14/C-labelled ethylene glycol. *Biochim. J.*, 1961, 79: 482. - 15. Gorgas K.: Peroxisomes in sebaceous glands. V Complex peroxisomes in the mouse preputial gland: Serial sectioning and three-dimensional reconstructions studies. *Anat. Embryol.*, 1984: 261. - 16. Hamilton G. A., Afey H. Y., Al-Arab M. M., Bursh E. J., Buckhall D. J., Burns C. L., Harris L. K., Kiselica S. D. G., Law W. A., Ryall R. P., Skorzynski S. S., Venkatesan P. P.: Peroxisomal oxidase and their probable role in controlling animal metabolism. In: *Peroxisomes in biology and medicine.* Ed. Fahimi H. D., Sies H. Springer, Berlin-Heidelberg, 1987: 223. - 17. Hurban Z., Rechcigl M.: Microbodies and related particles: morphology, biochemistry and physiology. *Int. Rev. Cytol., Suppl.* 1969, 1: 1. - 18. Imazu K., Fujihira K., Inoue N., Mori K.: Effects of ethylene glycol on drug metabolising enzymes in rat liver. *Sangyo. Ika. Daigaku. Zasshi*, 1991, 113(1): 13. - 19. Kuthan H., Tsuji H., Graf H., Ullrich V., Werringloer J., Esteban R. W.: Generation of superoxide anion as a source of hydrogen peroxide in monooxygenase system. *FEBS Lett.*, 1978, 91: 343. - 20. Kuthan H., Ullrich V.: Oxidase and oxygenase function of the microsomal cytochrome P-450 monooxygenase system. *Eur. J. Biochem.*, 1982, 126: 583.

21. Linnonvuo-Laitinen M., Hutten K.: Ethylene glycol toxicity. *J. Clin. Toxicol.*, 1986, 24: 167. - 22. Lutz W.: Kwasy żółciowe. *Post. Biochem.*, 1975, 21: 337. - 23. Masumi A., Aoi S., Shiga J., Tsukada K.: Heat-shock proteins and nucleolar hypertrophy in the liver infused with methionin-free total parenteral nutrition. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1990, 1052: 71. - 24. Miller W. P., Fruetel J. A., Ortiz de Montellano P. R.: Cytochrome P-450 cam-catalysed oxidation of

hypertensive radical probe. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1992, 298(2): 697. - 25. Miura M.: Serum and tissue lysosomal enzymes and liver dysfunction after an experimental acute lower limb ischemia in rats. *Nippon Geka Gakkai. Zasshi.*, 1992, 93(11): 1441. - 26. Nakamura K., Oliver C., Stadtman E. R.: Inactivation of glutamine synthetase by a purified rabbit liver microsomal cytochrome P-450 system. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1985, 240: 319. - 27. Oelkers B., Diehl H., Liebig H.: In vitro inhibition of cytochrome P-450 reductases from pig liver microsomes by garlic extracts. *Arzneimittelforschung*, 1992, 42(2): 136. - 28. Palmer R. H.: Bile acids, liver injury and liver disease. *Arch. Int. Med.*, 1972, 130: 660. - 29. Richardson K. E., Tolbert N. E.: Oxidation of glyoxylic acid to oxalic acid by glycolic acid oxidase. *J. Biol. Chem.*, 1961, 236: 1280. - 30. Schroder H. C., Buchman M., Diehl-Seifert B., Muller W. E. G.: Transport of mRNA from nucleus to cytoplasm. *Prog. Nucleic Acids Biol.*, 1987, 34: 89.

31. Sollner-Webb B., Mongey E. B.: News from the nucleolus: eRNA gene expression. *Trends Biochem. Sci.*, 1991, 16: 58. - 32. Szram S., Trojanowski K., Zieliński K., Młoczkowski D., Bielnik K., Wołkanin P.: Analiza ilościowa zmian jądra hepatocytu w przebiegu doświadczalnego przewlekłego zatrucia glikolem etylenowym. XIV Zjazd Pol. Tow. Pat., Materiały Zjazdowe. Bydgoszcz 1998: 94. - 33. Trivier J. M., Libersa C., Belloc C., Lhermitte M.: Amiodarone N-deethylation in human liver microsomes: involvement of cytochrome P4503A enzymes (first report). *Life Sci.*, 1993, 529(10): 91. - 34. Von Wartburg J. P., Bethune J. L., Vallae B. L.: Human liver alcohol dehydrogenase. Kinetic and physicochemical properties. *Biochem.*, 1964, 3: 1775. - 35. Winters D. K., Clejan L. A., Cedrebaum A. I.: Oxidation of glycerol to formaldehyde by rat liver microsomes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1988, 153: 612. - 36. Winters D. K., Cedrebaum A. I.: Oxidation of glycerol to formaldehyde by rat liver microsomes. *Biochem. Pharmacol.*, 1990, 39: 697. - 37. Yang C. S., Koop D. R., Wang T., Conn M. J.: Immunochemical studies on the metabolism of nitrosamines by ethanol-inducible cytochrome P-450. *Biochem. Biophys. Acta.*, 1987, 128: 1007. - 38. Zaar K., Volkl A., Fahimi H. D.: Isolation and characterization of peroxisomes from the renal cortex of beef, sheep kidney cortex peroxisomes with the endoplasmic reticulum. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1987, 897: 135. - 39. Zimmermann H. J.: Hepatotoxicity. The adverse effects of drug and other chemicals on the liver. *Appelton-Centry-Crofts.* N. York, 1978.

Adres pierwszego autora:

Katedra i Zakład Medycyny Sądowej  
ul. Sędziowska 18a  
91-304 Łódź