

M..F., Wallach R.: Ethylene glycol poisoning. Am. J. Med., 1974, 57, 143-150.

21. Próchnicka B., Kołodziej J., Gierz J.: Śmiertelne zatrucia glikolem etylenowym. Arch. Med. Sąd. Krym., 1979, 29, 313-315. -22. Sharma S., Nath R., Thind S.K.: Recent advances in measurement of oxalate in biological materials. Scanning Microsc, 1993, 7 (1), 431-441. -23. Stokes J.B., Aueron F.: Prevention of organ damage in massive ethylene glycol ingestion. JAMA, 1980, 243, 2065-2070. -24. Tenczyński L: Przypadek zatrucia glikolem etylenowym. Pol. Tyg. Lek., 1968, 49, 1986-1987.

Adres pierwszego autora:

Katedra i Zakład Medycyny Sądowej Śląskiej AM
ul. Medyków 18
40-752 Katowice

Krystyna Bielnik*, Dariusz Młoczkowski*, Stefan Szram**

Zmiany ultrastrukturalne w mięśniu serca szczurów narażonych na długotrwałe spożywanie glikolu etylenowego w niskich dawkach

Myocardial ultrastructural changes in rats exposed to long ethylene glycol intake

* Z Katedry Patomorfologii Klinicznej WAM w Łodzi
Kierownik Katedry: prof. dr hab. med. K.W. Zieliński

** Z Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej AM Łodzi
Kierownik Katedry: prof. dr hab. med. S. Szram

Eksperyment przeprowadzono na 80-ciu szczurach szczepu wsoznego Wistar, którym podawano do picia 1,25% roztwór glikolu etylenowego przez 16 tygodni. Dokonano oceny mięśnia serca w mikroskopie świetlnym i elektronowym po 12, 14 i 26 tygodniach trwania doświadczenia. W miarę upływu czasu zaobserwowano zmiany morfologiczne zarówno w obrębie struktury włókien mięśniowych, jak i przestrzeni śródmiąszkowej. Początkowo występował obrzęk w przestrzeni śródmiąszkowej, następnie pojawiły się fibroblasty tworzące kolagen. Zmiany w komórkach dotyczyły nasilenia funkcji autosomalnej, kondensacji mitochondriów oraz wydzielania uszkodzonych organelli komórkowych przez nieuszkodzoną sarkolemmę.

Experiments were carried out in 80 Wistar rats who were given a 1,25% ethylene glycol solution to drink for 16 weeks. Myocardium was estimated by light and electron microscope after 12, 14, and 16 weeks of the experiment. As time passed morphological changes were observed both within the muscle fibres and interstitial space. Initially, oedema in the interstitial space was found, then collagen forming fibroblasts appeared. Changes in muscle cells were related to intensification of lysosome autophagosomal function, mitochondria condensation and damaged celi organelle secretion outside the intact sarcolemma.

Słowa kluczowe: serce, glikol etylenowy, przewlekła intoksykacja, morfologia, ultrastruktura.

Key words: heart, ethylene glycol, chronic intoxication, morphology, ultrastructure.

WSTĘP

Glikol etylenowy (GE) jest alkoholem dwuwodorotlenowym o własnościach fizyko-chemicznych zbliżonych do gliceryny. Jest powszechnie stosowany jako główny składnik chłodziwa w motoryzacji i pojazdach kosmicznych, dodatek do produkcji farb, lakierów, środków farmaceutycznych, kosmetyków, a także jako środek konserwujący w przemyśle spożywczym.

Stosunkowo często spotykamy się z ostrymi zatruciami tą substancją, po spożyciu celowym lub pomyłkowym. Postać ostrego zatrucia GE jest dość dobrze poznana i opisana. Jednak ze względu na szeroki wachlarz produktów zawierających GE dostępnych na rynku istnieje możliwość powstawania przewlekłych zatruc tą substancją (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7).

Celem naszej pracy jest przedstawienie zmian ultrastrukturalnych w mięśniu serca szczurów narażonych na przewlekłe spożywanie GE.

METODYKA

Doświadczenie przeprowadzono na 80 szczurach szczepu wsobnego Wistar (40 samców i 40 samic), w wieku 5-ciu m-cy i ciężarze ciała 150—180g. Zwierzęta podzielono na dwie grupy doświadczalną D (60 zwierząt) i kontrolną K (20 zwierząt). Szczurom grupy K podawano paszę Murigran i wodę pitną w dowolnej ilości. Zwierzęta grupy doświadczalnej otrzymywały paszę Murigran oraz wodę pitną w dowolnej ilości z dodatkiem glikolu etylenowego w postaci roztworu o stężeniu 1,25%. Stężenie to zostało ustalone we wstępnym badaniu pilotowym. Zwierzęta uśmiercano w ogólnym znieczuleniu eterowym przez otwarcie klatki piersiowej, w 12, 14 i 16 tygodniu trwania eksperymentu. Wycinki pobrane z mięśnia prawej i lewej komory serca utrwalano w 3,6% glutaraldehydzie w 0,13 M buforze kakodylowym o pH 7,2. Po dotrwaleniu w 2% roztworze czterotlenku osmu materiał zatapiano w Eponie. Preparaty krojono ultramikrotomem LKB-5, siatki kontrastowano w automacie Ultrastein-LKB i oceniano w mikroskopie elektronowym 10 CR Zeiss. Wycinki pobrane do badań histologicznych w mikroskopie świetlnym utrwalano w 10% roztworze zobojętnionej formaliny, następnie opracowywano w procesorze tkankowym Hypocenter-Shandon. Błoczki parafinowe krojono na skrawki grubości 4 mikronów, barwiono hematoksyliną i eozyną oraz wykonano odczyny histochemiczne metodą Selye go i Massona.

WYNIKI BADAŃ

1. Obserwacja kliniczna zwierząt doświadczalnych w czasie trwania eksperymentu.

W czasie trwania doświadczenia zachowanie się zwierząt grupy kontrolnej i grup doświadczalnych było podobne.

2. Wyniki badań morfologicznych w mikroskopie świetlnym.

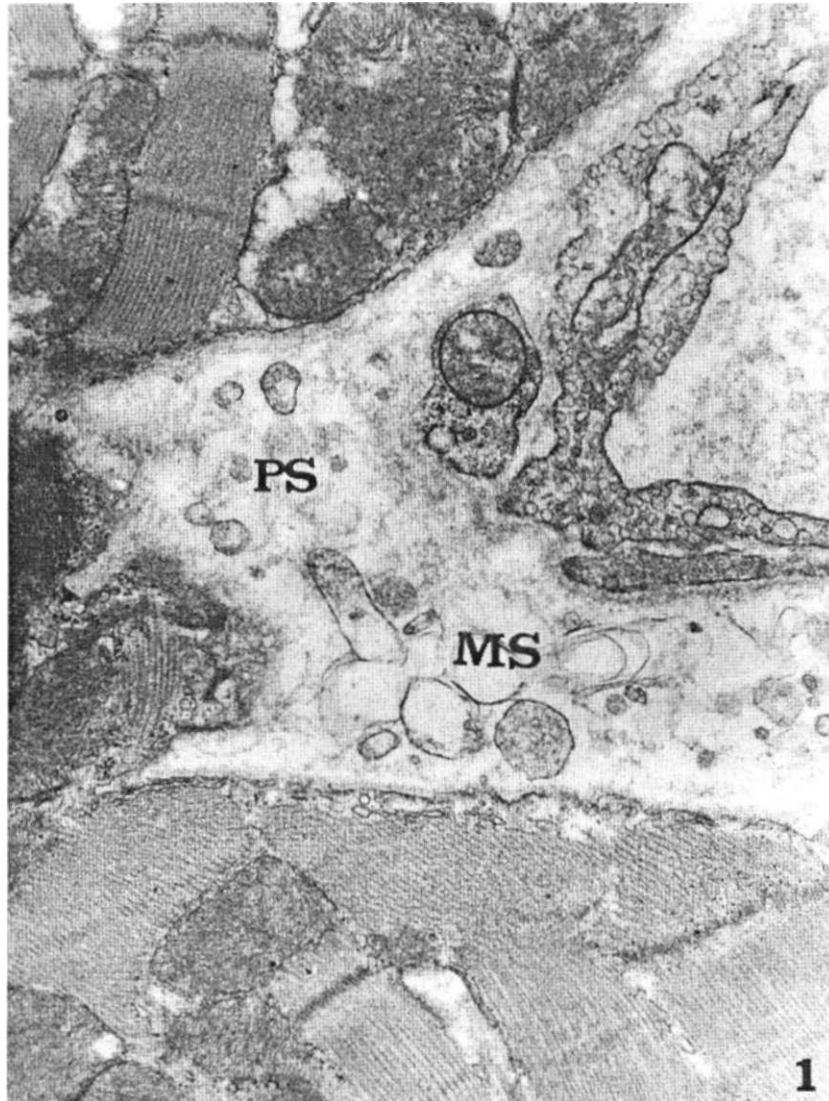
W wycinkach z serc zwierząt doświadczalnych po 12 tygodniach doświadczenia stwierdzono obrzęk śródmiąższowy z poszerzeniem przestrzeni międzykomórkowych i okołonaczyniowych. Po 14 tygodniach obrzęk utrzymywał się oraz można było zaobserwować w tych miejscach obecność substancji o strukturze włókienkowej. Po dalszych dwóch tygodniach w przestrzeniach okołonaczyniowych widoczne były dojrzałe włókna kolagenowe. Włókna mięśniowe wykazywały cechy niewielkiego przerostu. W żadnym przypadku nie stwierdzono natomiast zjawiska oksalozy obserwowanej przez innych autorów (8).

3. Wyniki badań morfologicznych w mikroskopie elektronowym.

W mięśniu serca szczurów doświadczalnych po 12 tygodniach trwania eksperymentu stwierdzono obrzęk śródmiąższowy w postaci poszerzenia przestrzeni międzykomórkowych i okołonaczyniowych, z obecnością substancji o niskiej gęstości elektronowej wykazującej strukturę drobnoziarnistą wśród której ogniskowo widoczne były pojedyncze fibroblasty, włókna kolagenowe o chaotycznym układzie oraz wydzielone poza sarkolemmę uszkodzone organella komórkowe, głównie mitochondria (ryc. 1, 2). W strukturze aparatu kurczliwego, jąder komórkowych miocytów, mitochondriów, kanałów siateczki śródplazmatycznej, sarkolemmy i wstawek nie stwierdzono istotnych zmian w porównaniu z grupą kontrolną.

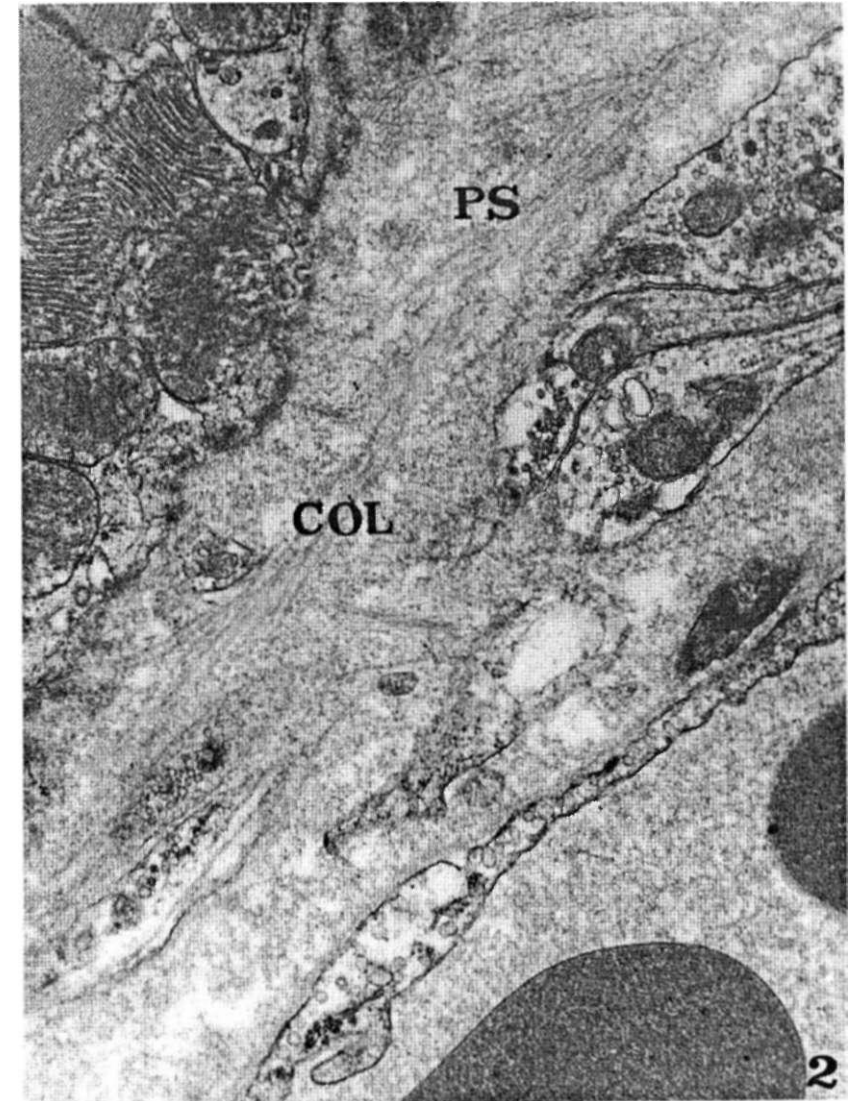
Po 14 tygodniach trwania eksperymentu zaobserwowano zwiększenie liczby lizosomów (autofagosomów) wśród skupisk mitochondriów oraz w pobliżu jąder komórkowych miocytów. W dalszym ciągu utrzymywał się obrzęk śródmiąższowy, a substancja zawarta w przestrzeniach okołonaczyniowych i międzykomórkowych wykazywała większą gęstość elektronową w porównaniu do zwierząt grupy poprzedniej. Wśród tej substancji widoczne były pojedyncze fibroblasty, a także opisane wyżej uszkodzone struktury błoniaste. Stwierdzono również zwiększenie obszarów zawierających włókna kolagenowe. Stopień dojrzałości tych włókien był wyższy niż w grupie poprzedniej. W pozostałych elementach strukturalnych miocytów nie obserwowano istotnych zmian patologicznych.

W grupie zwierząt uśmierconych po 16 tygodniach trwania doświadczenia w strukturze mięśnia serca widoczne były bardzo istotne zmiany. W przestrzeniach międzykomórkowych i okołonaczyniowych stwierdzono obecność kolagenu o różnym stopniu dojrzałości, od typu III-ciego do I-szego (ryc. 3). W znacznie poszerzonych przestrzeniach międzykomórkowych widoczne były liczne struktury błoniaste o różnym stopniu destrukcji oraz nieliczne fibrocyty. Nadal utrzymywała się zwiększona ilość autofagosomów w obrębie włókien mięśniowych (ryc. 4). Niektóre mitochondria posiadały zwielokrotnioną ilość błon, a większość z nich miała zagęszczoną strukturę wewnętrzną świadczącą o przejściu do stanu skondensowanego. W pojedynczych włóknach widoczne były uszkodzone łącza międzykomórkowe w postaci odcinkowego rozsunięcia brzegów wstawek (ryc. 5). W nielicznych włóknach mięśniowych stwierdzono marginalizację chromatyny jąder komórkowych, w żadnym przypadku nie zaobserwowano obecności kryształów szczwianów wapnia w tkankach.



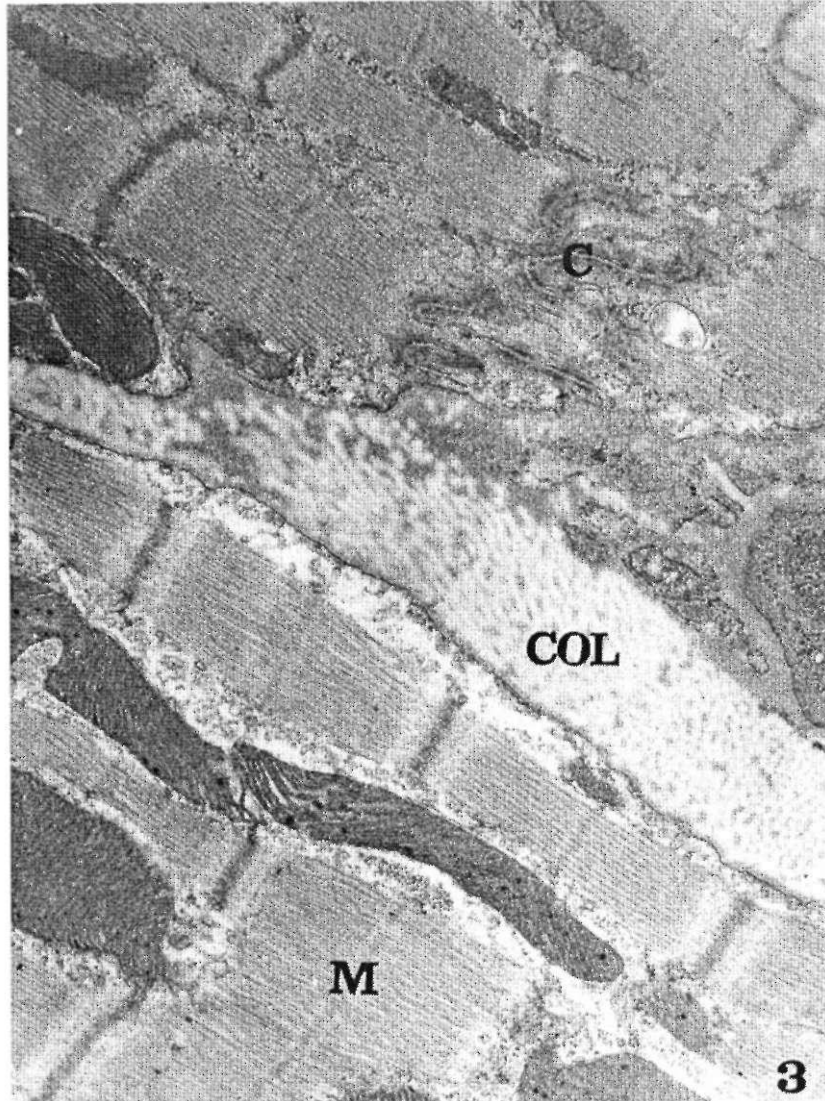
Ryc. 1. Wycinek z serca szczura po 12 tygodniach intoksykacji. Elektronogram pow. 10 000x. Poszerzona przestrzeń okołonaczyniowa (PS) zawierająca materiał o niewielkiej gęstości elektronowej i wydzielone poza komórkę uszkodzone struktury błoniaste (MS). Struktura aparatu kurczliwego prawidłowo utrzymana.

Fig. 1. Rat heart specimen 12 weeks after intoxication. Electronogram enl. 10 000x. Dilated perivascular space (PS) containing material of slight electron density and damaged membranous structures (MS) secreted beyond the cells. Maintained regular structure of contractile apparatus.



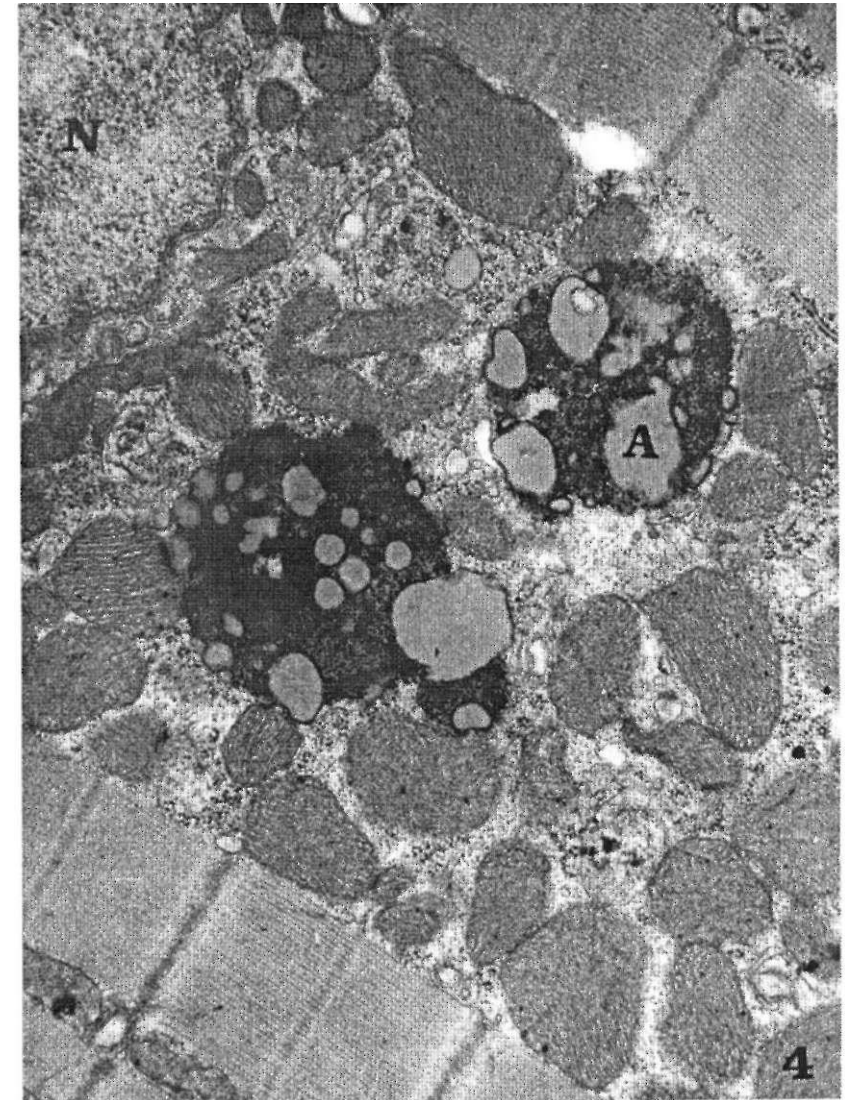
Ryc. 2. Wycinek z serca szczura po 12 tygodniach intoksykacji. Elektronogram pow. 10 000 x. W poszerzonej przestrzeni okołonaczyniowej (PS) obecne delikatne włókna kolagenowe (COL) o chaotycznym układzie.

Fig. 2. Rat heart specimen 12 weeks after intoxication. Electronogram enl. 10 000x. Delicate collagen fibres (COL) in chaotic arrangement found in the dilated perivascular space (PS).



Ryc. 3. Wycinek z serca szczura po 16 tygodniach intoksykacji. Elektronogram pow. 10 000 x. W przestrzeni okołonaczyniowej obecny dojrzały kolagen (COL). Struktura włókien mięśniowych (M) i połączenia międzykomórkowego (C) prawidłowo utrzymana.

Fig. 3. Rat heart specimen 16 weeks after intoxication. Electronogram enl. 10 000x. Mature collagen (COL) found in the paravascular space. Maintained regular structure of muscle fibres (M) and intercellular connection (C).



Ryc. 4. Wycinek z serca szczura po 16 tygodniach intoksykacji. Elektronogram pow. 10 000 x. Autofagosomy (A) w sąsiedztwie jądra (N) komórkowego włókna mięśniowego.

Fig. 4. Rat heart specimen 16 weeks after intoxication. Electronogram enl. 10 000x. Autophagosomes (A) in the neighbourhood of muscle fibre nucleus (N).



Ryc. 5. Wycinek z serca szczura po 16 tygodniach intoksykacji. Elektronogram pow. 10 000 x. Rozsuniecie brzegów wstawki (C) (połączenia między włóknami mięśniowymi).

Fig. 5. Rat heart specimen 16 weeks after intoxication. Electronogram enl. 10 000x. Separation of the connection edge (C) (between muscle fibre connection).

OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ

Stosowanie w sposób przewlekły małych dawek glikolu etylenowego w istotny sposób wpływa na strukturę mięśnia serca. Pojawiają się zaburzenia struktury wewnętrznej włókien mięśniowych, a także narastają procesy włóknienia śródmiąższowego. Procesy destrukcyjne występują jednocześnie z próbami utrzymania prawidłowej homeostazy włókna mięśniowego, o czym świadczą znacznie nasilone procesy uprzątania i egzocytozy. Efektywność tych procesów jest ściśle uzależniona od prawidłowej perfuzji naczyniowej i dyfuzji pomiędzy krwią a włóknem mięśniowym. Narastające w czasie zjawisko włóknienia ma charakter nieodwracalny i niewątpliwie wpływa niekorzystnie na procesy ukrwienia zarówno pojedynczych włókien, jak i serca jako całości.

DYSKUSJA

Zjawiska patologiczne występujące w strukturze mięśnia serca zwierząt doświadczalnych składają się na obraz kardiomiopatii wtórnej. Może mieć to związek z działaniem w sposób ciągle bardzo toksycznych metabolitów glikolu etylenowego. Jak wynika z danych z piśmiennictwa glikol etylenowy wywiera bezpośredni narkotyczny wpływ na komórki ośrodkowego układu nerwowego, w czym przypomina działanie alkoholu etylenowego (5). Natomiast nie wpływa ujemnie na oddychanie komórkowe, cykl kwasów karboksylowych oraz inne szlaki metaboliczne organizmów żywych. (5, 9) Metabolizm glikolu etylenowego odbywa się w mitochondriach, głównie wątroby i nerek. W procesach utleniania powstają takie substancje o charakterze aldehydowym jak: aldehyd glikolowy kwas glikolowy i kwas glioksalowy. Związki te hamują oddychanie komórkowe i procesy oksydatywnej fosforylacji, blokują dehydrogenazę alfa-ketoglutarynową i izocytrynianową hamują syntezę białek, replikację DNA i syntezę rybosomalnego RNA (5, 9, 10). Końcowym produktem degradacji GE jest kwas szczawiowy uznawany za potencjalną nefrotoksynę (6, 10, 11). W naszych badaniach nie stwierdziliśmy obecności szczawianów wapnia w żadnej tkance, w tym także w nerkach. Prawdopodobnie ilość ich, związana z niską dawką toksyny była zbyt mała do powstania oksalozu tkankowej spotykanej w przebiegu ostrego zatrucia wysokimi dawkami GE. Wszystkie produkty degradacji wywołują kwasicę metaboliczną (9, 10, 12, 13, 14). Kwasica metaboliczna powoduje między innymi blokowanie tzw. powolnego kanału wapniowego w błonie komórkowej włókien mięśnia serca (15). Metabolity GE poprzez wpływ na procesy oddychania komórkowego zaburzają procesy utleniania tkankowego i prawdopodobnie z tym należy wiązać powstawanie zmian strukturalnych mięśnia serca podobnych do obserwowanych w kardiomiopatii niedokrwiennej lub poalkoholowej (7, 16, 17, 18).

Pojawienie się kolagenu w przestrzeniach wokół naczyń wieńcowych mięśnia serca i narastanie jego ilości w czasie trwania naszego eksperymentu wydłuża drogę dyfuzji tlenu, a tym samym powoduje dalsze pogłębienie deficytu tlennego na poziomie komórkowym.

PIŚMIENICTWO

I. Bobbit W. H., Williams R. M., Freed C. R.: Severe ethylene glycol intoxication with multisystem failure. *West. J. Med.* 1986, 144, 225. -2. Cathings T. T., Beamer W. C., Lundy L., Prough D. S.: Adult respiratory distress syndrome secondary to ethylene glycol ingestion. *Ann. Emerg. Med.* 1985, 14, 594. -3. Darosa R., Henning R. J., Sunshine I., Sutheimer C: Acute ethylene glycol poisoning. *Crit. Care Med.* 1984, 12, 1003. -4. Frommer J. P., Ayus J. C: Acute ethylene glycol intoxication. *Am. J. Nephrol.* 1982, 2, 1. -5. Parry M. F., Wallach R.: Ethylene glycol poisoning. *Am. J. Med.* 1974, 57, 143. -6. Turk J., Morrel L, Avioli L. V.: Ethylene glycol intoxication. *Arch. Int. Med.* 1986, 146, 1601. -7. Verilli M. R., Deyling C. L, Pippenger C. E., van Lente F., Vidt D. G., Sivak E. D.: Fatal ethylene glycol intoxication. Raport of case and review of the literature. *Cleve. Clin. J. Med.* 1987, 54, 289. -8. Nizze H., Schwabbauer P., Brachwitz C, Lange H.: Fatal chronic oxalosis after sublethal ethylene glycol poisoning. *Pathologie* 1997 18 (4), 328. -9. Bachman E., Golberg L: Reappraisal of the toxicology of ethylene glycol III: Mitochondrial Effects. *Fd. Cosmet. Toxicol* 1971, 9, 39. -10. Jacobsen d., Ovrebø S., Ostborg., Sejersted D. M.: Glikolate causes the acidosis in ethylene glycol poisoning and its effectively removed by hemodialysis. *Acta Med. Scand.* 1984, 216, 409.

II. Levy R. J.: Renal failure secondary to ethylene glycol intoxication. *JAMA* 1960, 173, 1210. -12. Clay K. L, Murphy R. C: On the metabolic acidosis on ethylene glycol intoxication. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1977, 39, 39. -13. Gabow P. A., Clay K. L., Sullivan J. B., Lepoff R.: Organic acids in ethylene glycol intoxication. *Am. Int. Med.* 1986, 105, 16. -14. McChesney E. W., Golberg L: Reappraisal of the toxicology of ethylene glycol IV. The metabolism of labelled glycolic and glyoxalic acid in The Rhesus Monkey. *Fd. Cosmet. Toxicol.* 1970, 10, 655. -15. Sperelakis N.: *Physiology and Pathophysiology of the Heart.* Sec ed. Kluwer Academic Publishers. Boston Dordrecht Lancaster 1989. -16. Lacerda P. R., Knirriem H. J., Bozner A.: Die Ultrastruktur des Herzmuskules der Ratte nach akuter Alkoholintoxicationem. *Z. Kreisf. Forsch.* 1969, 58, 97. -17. Robbins *Pathologie Basis of Disease* 5th ed. 1994, 540. -18. Zlatewa M., Angelow A.: Ultrastructural changes in the undamaged areas of the myocardium in rats with ischaemic-metabolic cardiomyopathy. *Zentralbl. Allg. Pathol.* 1980, 124, 136.

Adres pierwszego autora:
Katedra Patomorfologii Klinicznej
ul. Żeromskiego 113
90-549 Łódź

Tomasz Konopka

Opiniowanie sądowo-lekarskie w sprawach o uznanie zachorowań i nagłych zgonów za wypadki przy pracy - część II - dyskusja

Medical opinioning in recognition of disease and sudden death as occupational accidents - part II - dissesion

Z Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej CM UJ w Krakowie
Kierownik: dr hab. F. M. Trela - profesor UJ

Artykuł stanowi kontynuację opracowania „Opiniowanie sądowo-lekarskie w sprawach o uznanie zachorowań i nagłych zgonów za wypadki przy pracy”, zamieszczonego w numerze 2/2000. W tej części pracy rozważano różnice w opiniowaniu o przyczynieniu się warunków pracy do powstania poszczególnych schorzeń. Z lekarskiego punktu widzenia możliwe jest wykazanie udziału przyczyn zewnętrznych w nagłej śmierci sercowej, krwotoku z pękniętego tętniaka mózgowego i krwotoku mózgowym na tle nadciśnienia lub miażdżycy - związanych wysiłkiem fizycznym. W przypadkach dotyczących zawału serca oraz gdy przyczyną zewnętrzną wypadku miał być stres psychiczny, możliwości wykazania udziału przyczyn zewnętrznych są znacznie mniejsze, najdalej idąca opinia co najwyżej nie pozwala na ich wykluczenie.

This paper is the continuation of a previous entitled "Medical opinioning in cases of disease and sudden death recognition as occupational accidents", published in No. 2(2000). This part of the research refers to differences in opinioning related to employment conditions which possibly had an effect on particular disease and possibility of recognition as occupational accident in such cases. From a medical point of view there is no simple exclusion for recognition as an occupational accident cases of sudden cardiac death, haemorrhage from a ruptured cerebral artery aneurysm and cerebral haemorrhage in hypertension and/or arteriosclerosis - related to physical effort. In myocardial infarction cases of psychological stress was indicated as a possible external cause - possibility of recognition of cause and effect relationship is considerably lower.

Słowa kluczowe: wypadek przy pracy, zawał serca, opiniowanie.

Key words: occupational accident, myocardial infarction, opinioning.