

UČINAK IZLOŽENOSTI OLOVU NA PATOHISTOLOŠKE PROMJENE JETRE I BUBREGA U ODNOSU NA DOB ŠTAKORA

M. Piasek¹, K. Kostial¹ i A. Bunarević²

Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada Sveučilišta u Zagrebu¹, Zavod za opću patologiju i patohistološku anatomiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu², Zagreb

Primljeno 24. IX. 1987.

Promatrane su patohistološke promjene jetre i bubrega u odraslih ženki štakora i u njihove mladunčadi iz dvaju rasploda nakon oralne izloženosti olovu (acetat) u koncentraciji od 7500 ppm u vodi za piće. Izloženost je trajala do ukupno 20 tjedana. Reverzibilnost ovih promjena procjenjivana je u skupini tzv. oporavljenih ženki kojima je prekinuto izlaganje olovu 5 tjedana prije drugog parenja s neizloženim mužjacima. U skupini izloženih odraslih ženki, kao i u skupinama njihove mladunčadi iz prvog (kraća izloženost) i drugog potomstva (duža izloženost), nađene su istovjetne patohistološke promjene u parenhimnim organima. Tako su u obih opažene masna i/ili hidropska degeneracija u jetri i bubrezima, te hemosideroza jetre. U preparatima jetre izložene mladunčadi opažena su također brojna i krupna ekstramedularna krvotvorna žarišta. U bubrezima izloženih ženki videne su i izraženije nespecifične kronične upalne promjene. U skupinama oporavljenih ženki, nakon prekida oralne izloženosti olovu, patohistološki nalazi upućivali su na reverzibilnost morfoloških promjena. U njihove »oporavljene« mladunčadi viđeni su gotovo uredni nalazi. Može se zaključiti da je mladunčad štakora osjetljivija od svojih majki na štetno djelovanje olova budući da su u njih opažene patohistološke promjene jetre i bubrega bile istovjetne onima u odraslih ženki, premda su bili izloženi tijekom mnogo kraćeg perioda i samo maloj frakciji ukupnog unosa olova u organizam majke.

Poznato je da je olovo nefrotoksično. Glavne strukturne promjene koje nastaju kao posljedica izlaganja olovu ispoljavaju se na epitelnim stanicama proksimalnih zavijenih kanalića i u međustaničnim prostorima bubrega (1). Takve su promjene opisane i u profesionalno izloženih radnika i u pokusnih životinja. S druge strane, jetra kao glavni detoksikacijski organ u tijelu predstavlja meko tkivo s visokom koncentracijom olova. Stoga su i ovdje moguće strukturne promjene izazvane djelovanjem olova. Svrha ovog istraživanja je bila utvrditi patohistološke promjene u bubrezima i jetri nakon oralnog izlaganja olovu u odraslih ženki štakora i u njihovom potomstvu.

MATERIJAL I METODE

Spolno zrele ženke bijelog (Wistar) štakora iz uzgoja Instituta bile su izložene tijekom 20 tjedana razini od 7500 ppm olova (acetat, p.a. »Kemika«, Zagreb), otopljenom u deioniziranoj vodi kojom su napajane. Devet tjedana nakon početka pokusa u dijelu ženki prekinuto je izlaganje olovu i potom su do kraja pokusa, kao i kontrolna skupina, napajane deioniziranom vodom (tzv. oporavljena skupina). Sve su ženke hranjene standardnom krmnom smjesom za štakore (»Sljeme«, Zagreb).

Ženke su tijekom pokusa stavljane dva puta u rasplod s neizloženim mužjacima (u omjeru 2:1). Tako su okotile svoje prvo potomstvo nakon kraće (u 7. tjednu) i drugo potomstvo nakon duže izloženosti olovu (u 17. tjednu pokusa).

Patohistološki pregled jetre i bubrega vršen je u uzorku 11-dnevne mladunčadi iz prvog potomstva (kontrolna i izložena skupina) i na kraju pokusa istodobno u uzorcima tkiva 11-dnevne mladunčadi iz drugog potomstva i njihovih majki (kontrolna, izložena i oporavljena skupina). U svakoj promatranoj skupini bilo je po 10 životinja. Uzorci organa su fiksirani u 10%-tnom formalinu, dehidrirani, uklopljeni u parafinske blokove, izrezani na kliznom mikrotomu, na debljinu 7 μm , deparafinirani i obojeni standardnom hemalaun-eozinskom metodom. Također su provedene i histokemijske reakcije na vezi-vo metodom po Malloryju i na željezo reakcijom berlinskog modrila (2). Preparati su promatrani pod svjetlosnim mikroskopom.

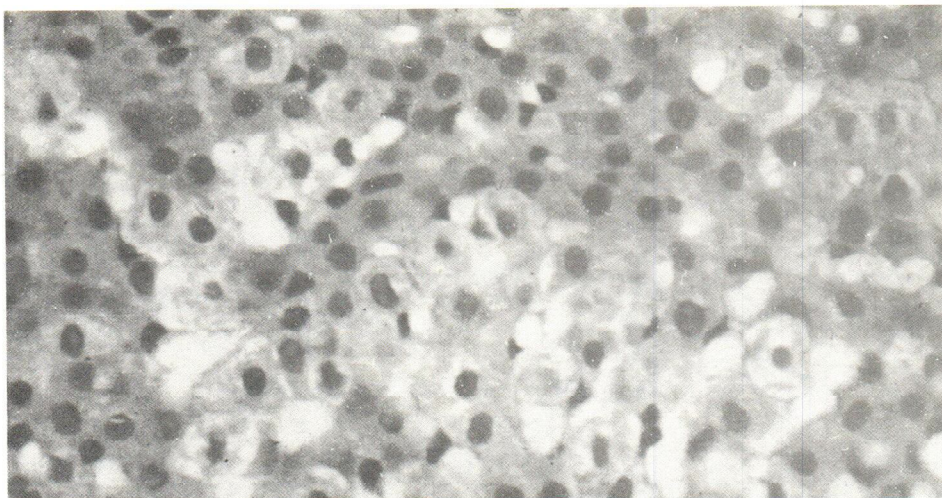
REZULTATI I RASPRAVA

Opće zdravstveno stanje i prirast tjelesne težine u skupini ženki izloženih olovu bili su tijekom pokusa bez razlike prema kontroli. Mladunčad ovih ženki, međutim, i nakon kraće, i nakon duže izloženosti majki bila je značajno slabija po težini, manje brojna i ugibala je u većem postotku u odnosu na kontrolu, kako je prije izviješteno (3,4). Pod ovim uvjetima izloženosti u mladunčadi štakora nije opažen teratogeni učinak olova, što je u skladu s podacima u literaturi (5).

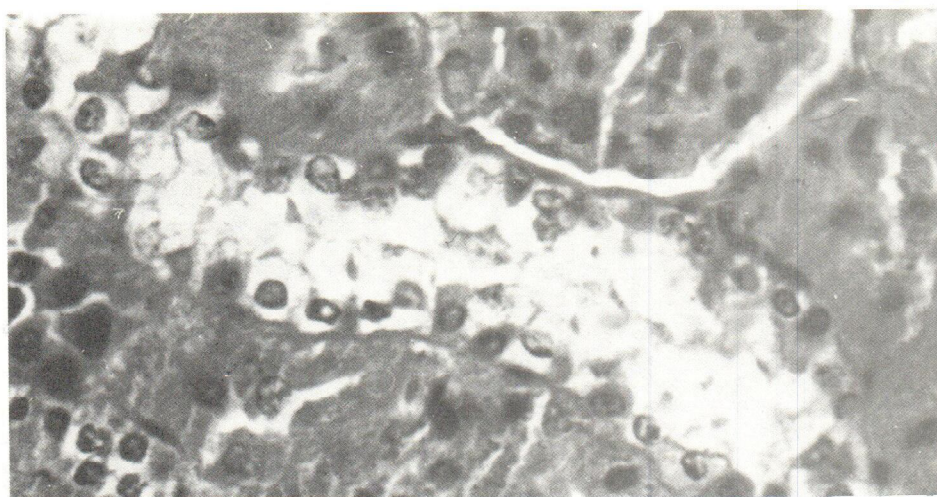
U histološkim preparatima jetre i bubrega izloženih i odraslih ženki i mladunčadi štakora iz dvaju potomstava, opažene su degenerativne promjene u smislu masne i/ili hidropske degeneracije epitelnih stanica jetre (slika 1) i epitelnih stanica proksimalnih zavijenih kanalića bubrega (slika 2).

U odraslih je ženki, osim toga, opažen i kronični intersticijski nefritis (slika 3). Elek-tivnim bojenjem po Malloryju dalo se razlučiti da je taj nalaz bio daleko najizraženiji u izloženih, slabiji u oporavljenih i najslabije izražen u kontrolnih ženki. Radilo se o ne-specificnim promjenama koje spadaju u sliku tzv. sindroma bubrega starog štakora (6). Činilo se, međutim, da je olovo u izloženih ženki na neki način »ubrvalo« ove promjene.

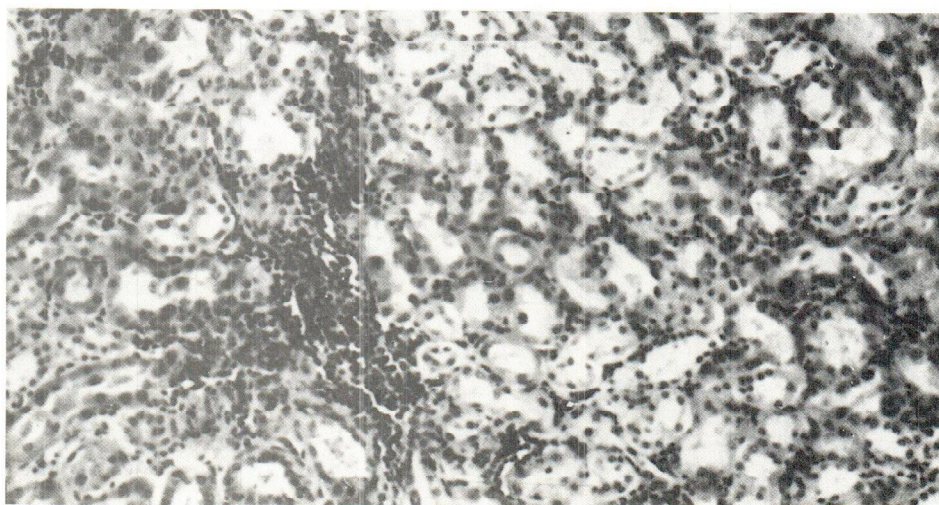
U histološkim preparatima jetre i u izloženih odraslih ženki i u njihove mladunčadi iz obaju rasploda, nađeno je povećano nakupljanje hemoglobinogenog pigmenta hemosiderina. Taj je nalaz potvrđen histokemijski pozitivnom reakcijom željeza u hemoside-rinu na berlinsko modrilo (slika 4).



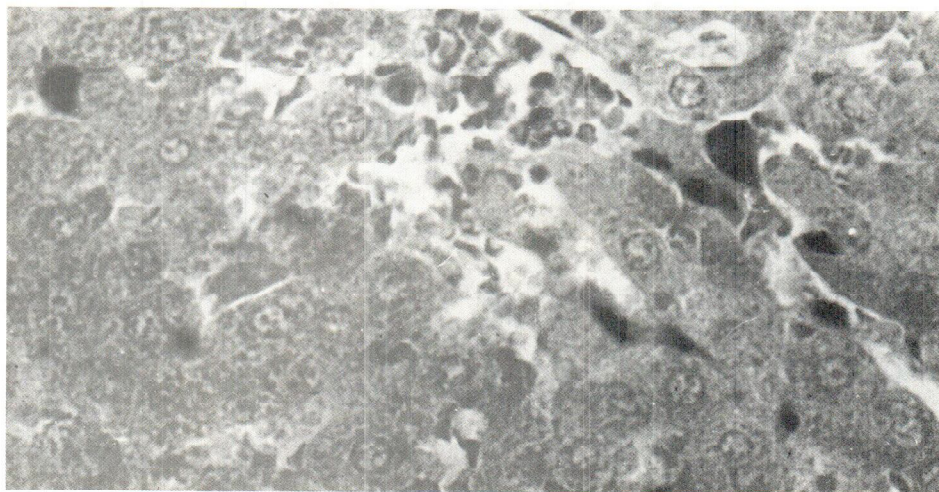
Slika 1. Preparat jetre ženke štakora izložene olovu (7500 ppm u piću) 20 tjedana: *degeneratio hydropica*. Struktura jetre poremećena. Ne razabiru se jasno gređice jetrenih stanica koje su nabubrene i krupne, s obilnom svijetlom citoplazmom i jezgrama u različitim stadijima piknoze. Sličan nalaz opaža se i u njihove mladunčadi u prvom i drugom potomstvu. (Bojenje: hemalaun i eozin; povećanje: 320x.)



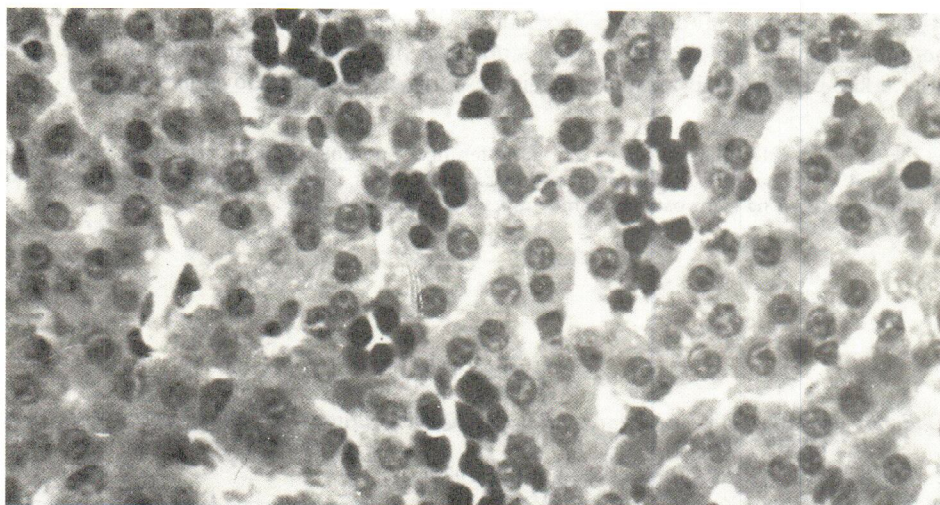
Slika 2. Preparat bubrega ženke štakora izložene olovu (7500 ppm u piću) 20 tjedana: *degeneratio hydropica*. U kori bubrega epitelne stanice proksimalnog zavijenog kanalića nabubrene, s izrazito svijetlom obilnom citoplazmom i mjeburastim, djelomice raspalim jezgrama. Lumen kanalića gotovo potpuno »zarušen«. Sličan nalaz opaža se i u njihove mladunčadi u prvom i drugom potomstvu. (Bojenje: hemalaun i eozin; povećanje 320x.)



Slika 3. Preparat bubrega ženke štakora izložene olovu (7500 ppm u piću) 20 tjedana, u dobi od 32 tjedna: *nephritis interstitialis chronica*. Na granici kore i srži bubrega umnožen intersticij infiltriran mononuklearnim upalnim stanicama. Epitel okolnih kanalića znatnije degenerativno promijenjen. Ovo je nespecifičan nalaz. Sličan nalaz u blažem obliku opaža se u kontrolnih i »oporavljenih« ženki jednake (poodmakle) dobi. (Bojenje: hemalaun i eozin; povećanje: 200x.)



Slika 4. Preparat jetre ženke štakora izložene olovu (7500 ppm u piću) 20 tjedana: *haemosiderosis hepatis*. U Kupfferovim stanicama između gredica hepatocita vide se nakupine grudica hemoglobinogenog pigmenta hemosiderina. Sličan nalaz opaža se i u njihovoj mladunčadi u prvom i drugom potomstvu. (Bojenje: reakcija berlinskog modrila na željezo u hemosiderinu; povećanje: 320x.)



Slika 5. Preparat jetre mladunčeta štakora iz drugog potomstva majke izložene olovu (7500 ppm u piću) 20 tjedana. U jetrenom tkivu vide se brojna i krupna krvotvorna žarišta između gredica epitelnih stanica. Stanice jetrenih gredica mjestimice degenerativno promijenjene. (Bojenje: hemalaun i eozin; povećanje: 200x.)

Usto su u preparatima jetre mladunčadi u prvom i drugom potomstvu opažena i dosta brojna i krupna ekstramedularna krvotvorna žarišta (slika 5). Ona, uz nalaz hemosideroze jetre, predstavljaju morfološke pokazatelje hematotoksičnog učinka olova.

U histološkim preparatima »oporavljene« mladunčadi nalazi su bili gotovo uredni. U skupini oporavljenih majki, osim nespecifičnih upalnih promjena, u preparatima bubrega nije nađeno nikakvih drugih patohistoloških promjena. U preparatima jetre opažena su tek umjerena ekstramedularna žarišta hematopoeze koja su, uz ostale lagane regenerativne promjene tkiva, upućivala na reverzibilnost odnosno »oporavak« od štetnog učinka olova u ovom organu.

ZAKLJUČAK

Na temelju patohistoloških nalaza u jetri i bubrezima moglo se zaključiti da je mladunčad štakora osjetljivija na štetno djelovanje olova od svojih majki. Naime, u njih su opažene istovjetne morfološke promjene kao i u odraslih ženki unatoč mnogo kraćoj izloženosti (*in utero* i putem majčina mlijeka do 11 dana nakon okoćenja) samo maloj frakciji ukupnog unosa olova u organizam majke, odnosno mnogo nižoj koncentraciji olova.

Ovi nalazi mogu biti doprinos spoznaji da su žene izložene olovu tijekom generativne dobi skupina s povišenim rizikom s obzirom na moguće štetno djelovanje na plod, koji je kao organizam u razvoju posebice osjetljiv na štetno djelovanje olova.

Zahvala – Zahvaljujemo Katici Pribić na tehničkoj pomoći prilikom izvođenja pokusa, Evi Heršak na izradi patohistoloških preparata te Barici Ferčec i Desanki Vasiljević na brizi oko pokusnih životinja i na svim ostalim pomoćnim tehničkim poslovima.

LITERATURA

1. *Environmental Protection Agency, EPA. Air Quality Criteria for Lead. Vol. I–IV. EPA-600/8-83-028F 1986.*
2. *Bunarević A. ur. Patologija. Zagreb: Jumena, 1979.*
3. *Piasek M, Kostial K. Reversibility of the effect of lead on reproductive performance in female rats. U: International Conference on Lead, Chromium and Thallium: Toxicity, Environmental and Health Impact, Regulation, Milano, Programme and Abstracts, 1986:28.*
4. *Piasek M, Kostial K. Reverzibilnost učinka olova na reprodukciju štakora. VII kongres biologa Jugoslavije, Budva. Plenarni referati i izvodi saopštenja, 1986:328.*
5. *Miller CD, Buck WB, Hembrough FD, Cunningham WL. Fetal rat development as influenced by maternal lead exposure. Vet Hum Toxicol 1982;24:163–6.*
6. *Newberne PM. Nutritional and metabolic diseases. U: K. Benirschke, F.M. Garner i T.C. Jones, ur. Pathology of Laboratory Animals, Vol. II. New York: Springer Verlag 1979:2153–4.*

Summary

THE EFFECT OF EXPOSURE TO LEAD ON HISTOPATHOLOGICAL CHANGES IN THE RAT LIVER AND KIDNEY IN RELATION TO AGE

Histopathological alterations in the liver and kidneys were examined in adult female rats and in their offspring from two matings after oral exposure to 7500 ppm lead (acetate) in drinking water. The length of exposure was up to 20 weeks. To estimate the reversibility of the effects in a number of exposed females lead administration was discontinued five weeks before their second breeding with unexposed males (the recovered group).

In the group of exposed adult females histopathological changes in parenchymal organs were analogous to those seen in their pups from the first (shorter exposure), and second offspring (longer exposure to lead). Fatty and/or hydropic degenerative changes in the liver and kidneys and haemosiderosis of the liver were observed in both adult females and their young. In the liver of exposed pups the presence of numerous large foci of extramedullary erythropoiesis was also detected. In the kidneys of exposed adult females non-specific chronic inflammatory changes were seen. In the group of recovered females, after discontinuation of oral exposure to lead, histopathological findings indicated the reversibility of morphological changes. In their recovered pups the findings were also almost normal.

It may be concluded that young rats are more susceptible to adverse action of lead than their mothers. The histopathological changes observed in their livers and kidneys were analogous to those seen in adult females, although they had been exposed to lead for a much shorter period and to only a small fraction of the total mother's lead intake.

*Institute for Medical Research and Occupational Health
University of Zagreb¹ and Medical Faculty University
of Zagreb², Zagreb*