

ANDRZEJ OWCZAREWICZ, JANUSZ KARPINSKI

## Ocena zmian histologicznych i histochemicznych w wątrobie owiec w przebiegu doświadczalnej niedrożności jelita czczego

Z Zakładu Anatomii Patologicznej i Kliniki Chirurgicznej Instytutu Chorób Niezakaźnych Wydziału Weterynaryjnego AR w Lublinie

Niedrożności przewodu pokarmowego przeważają wśród schorzeń tego układu stanowią dość liczną grupę i są przedmiotem zainteresowania wielu autorów (3, 5, 6, 7, 13, 14). Prace eksperymentalne dotyczące tego zagadnienia poświęcone są jednak głównie zaburzeniom w gospodarce wodno-elektrolitowej (8, 10). W patologii niedrożności jest to problem istotny, jednakże dla ustalenia właściwego rokowania i leczenia dużą wartość może mieć także znajomość stanu czynnościowego wątroby chorego zwierzęcia.

Wątroba, funkcjonalnie ściśle związana z przewodem pokarmowym, była przedmiotem badań przy niektórych jego schorzeniach u przeważająco. Wykazano, że niestrawność kwaśna i urazowe zapalenie czepca powodują znaczne zaburzenia jej czynności (4, 17). Zioło i wsp. (24) stwierdzili, że wagotomia i rozwijające się w jej następstwie zaburzenia czynności przewodu pokarmowego są przyczyną powstawania nieodwracalnych zmian w komórkach wątrobowych i niewydolności czynnościowej narządu.

Opisywane w związku z różnymi schorzeniami przewodu pokarmowego zaburzenia czynnościowe wątroby są wynikiem jej uszkodzenia, spowodowanego wchłanianiem się nadmiaru toksycznych substancji, powstających na skutek nieprawidłowego trawienia. Uszkodzenie wątroby możliwe jest do stwierdzenia na podstawie badań biochemicznych krwi, jak też badania bezpośredniego samej tkanki wątrobowej w oparciu o metody histologiczne i histochemiczne.

Badania biochemiczne krwi przeprowadzone przez Karpińskiego (11) wykazały znacznego stopnia zaburzenia czynności wątroby w przebiegu doświadczalnej niedrożności jelita cienkiego u owiec.

Mając powyższe na uwadze postanowiono dokonać bezpośredniej oceny zmian histologicznych i histochemicznych komórek mięsistych wątroby owiec w przebiegu podobnej niedrożności oraz po jej operacyjnym usunięciu.

### Materiał i metody

Przedmiotem badań było 15 klinicznie zdrowych owiec bez określonych cech rasowych w wieku 1—3 lat. W trakcie doświadczenia zwierzęta przeżywały

w tych samych warunkach środowiskowych i żywione były jednakowo. Badania przeprowadzono w trzech grupach zwierząt. Grupa I, licząca 6 owiec, u których wywołaną chirurgicznie niedrożność jelita czczego usuwano po 4 dniach (2 owce) i po 5 dniach (4 owce). Zwierzęta tej grupy uśmiercano po 30 dniach obserwacji klinicznych. Grupa II — 3 owce z niedrożnością jelita czczego uśmiercone w stanie nie rokującym wyleczenia w 6 dniu doświadczenia. Grupa III — 3 owce z niedrożnością pozostawione do momentu zejścia śmiertelnego. Grupę kontrolną stanowiły 3 owce, u których wykonano laparotomię i uśmiercono je po upływie 7 dni, to jest po zagojeniu się (klinicznym) rany pooperacyjnej.

Materiał do badań pobierano z prawego płata wątroby. Od zwierząt grupy II, III i kontrolnej wycinki pobierano bezpośrednio po śmierci, natomiast od owiec grupy I materiał pobierano dwukrotnie: po raz pierwszy podczas zabiegu usuwania niedrożności (przyżyciowo), drugi raz po uśmierceniu zwierząt.

Pobrane wycinki wątroby utrwalano w obojętnym formolu w temp. 4°C przez okres 24 godzin, następnie skrawano na mikrotomie mroźniowym i wykonywano odczyny na fosfatazę kwaśną i zasadową wg metody precypitacyjnej Gomoriego. Glikogen wykrywano w skrawkach utrwalonych w alkoholu absolutnym wg metody Besta. Obecność tłuszczów obojętnych wykazywano, barwiąc skrawki Sudanem IV wg metody Daddi'ego. W celu morfologicznej oceny narządu sporządzono preparaty parafinowe i zabarwiono je hematoksyliną i eoźną.

### Wyniki

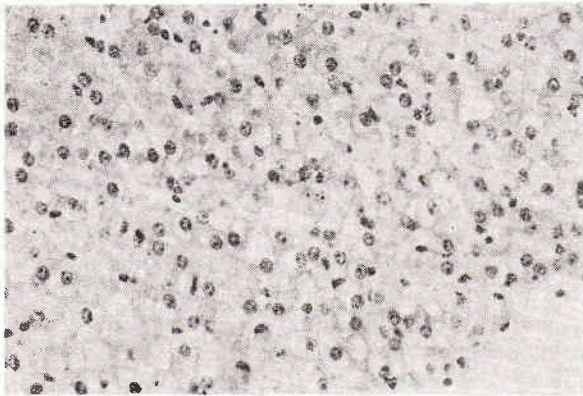
Obserwacje kliniczne. Bezpośrednio po wykonaniu niedrożności wystąpiły u zwierząt średniego stopnia bóle morzyskowe, utrzymujące się do 6 godzin. Wzrosła liczba tętna i oddechów. Ciężota ciała nie zmieniała się przez cały czas trwania doświadczenia. Po 12 godzinach oddechy powracały do normy, natomiast tętno wzrastało do wartości powyżej 150/min. Motoryka przewodu pokarmowego początkowo słaba i nieregularna, po 12 godzinach zanikła całkowicie. Zwierzęta stały się apatyczne, reakcja na bodźce była wyraźnie osłabiona. Od drugiego dnia trwania niedrożności na plan pierwszy wysunęły się objawy osłabienia i odwodnienia. Owce przeżywały średnio 6 dni. W grupie I, już po 24 godzinach od usunięcia niedrożności stan kliniczny zwierząt nie wykazywał odchylenia od normy.

Badanie sekcyjne. Wszystkie zwierzęta poddano autopsji i u większości stwierdzono uszkodzenie układu naczyniowego, co wyrażało

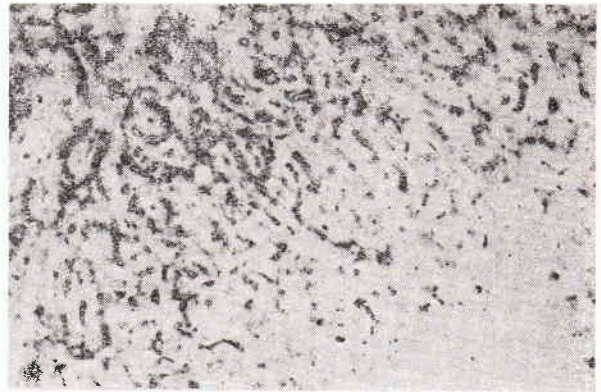
się przesiękami do jam ciała, obrzękiem płuc i rozstrzenią mięśnia sercowego. Wątroba i nerki, a także mięsień sercowy wykazywały cechy zwyrodnienia mięszonego. W dwóch przypadkach stwierdzono ostre nieżytowe zapalenie błony śluzowej jelit cienkich i rozdemę płuc.

Badanie mikroskopowe. W obrazie histologicznym wątroby, zarówno w grupie I w materiale pobranym przyżyciowo, jak też w grupach II i III obserwowano zmiany polegające na nierównomiernym barwieniu się cytoplazmy komórek mięszonego. Zmniejszona barwliwość cytoplazmy w największym stopniu występowała w hepatocytach owiec grupy II i III. Prócz tego napotymano dość liczne komórki o cechach zwyrodnienia mięszonego, w których jądra uległy obkurczeniu lub rozpadowi. W niektórych przypadkach zarówno jądro komórkowe, jak też cytoplazma uległy martwicy rozplywnej, tak, że w miejscu komórki pozostało puste miejsce (ryc. 1). Tak zmienione komórki występowały we wszystkich strefach zrazików, jednak najczęściej w strefie środkowej i pośredniej.

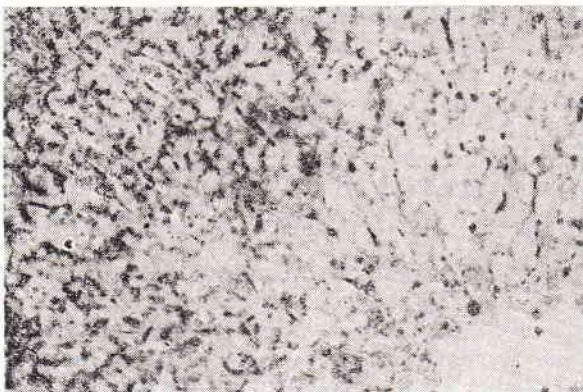
Fosfataza kwasna. W wątrobie owiec grupy I, od których pobrano materiał przyżyciowo (4 i 5 dzień doświadczenia) ilość ziarnistości zawierających fosfatazę kwasną była znaczna, większa niż w wątrobie owiec grupy kontrolnej. Ziarnistości występowały głównie w obwodowych partiach zrazików (ryc. 2). Strefy środkowa i pośrednia zawierały znacznie mniejszą ich ilość. W II grupie zwierząt ilość ziarnistości wykazujących dodatni odczyn na fosfatazę kwasną była bardzo duża, wyraźnie większa niż w grupie I. Ułożone były one głównie w pobliżu kanalików żółciowych, niejednokrotnie wypełniając całą cytoplazmę komórek mięszonego. Największą ilość ziarnistości obserwowano w komórkach mięszonego strefy obwodowej i pośredniej. Strefa środkowa wykazywała znacznie mniejsze nasilenie odczynu. W wątrobie owiec grupy III (przetrzymany do śmierci) odczyn był podobny do występującego w grupie II. W strefie środkowej, a zwłaszcza w komórkach leżących w bezpośrednim sąsiedztwie żył środkowych występowało większe nasilenie odczynu niż w analogicznych strefach zrazików wątroby owiec z grupy I i II. Poza tym ziarnistości wydawały się być większe, zwłaszcza leżące w komórkach strefy obwodowej. Występował także odczyn dyfuzyjny (ryc. 3). W wątrobie zwierząt grupy I uśmierconych po 30 dniach obserwacji ilość ziarnistości uległa wyraźnemu zmniejszeniu, zbliżając się do poziomu obserwowanego w grupie kontrolnej. Tylko w jednym przy-



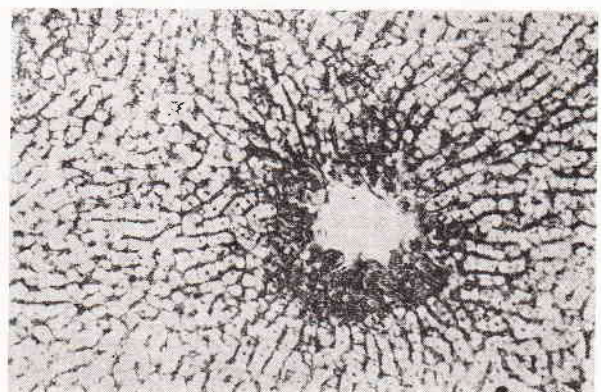
Ryc. 1. Wątroba owcy z grupy II. Martwica rozplywna komórek mięszonego. Barwienie hemateksyliiną i eoźną. Pow. ok. 250×



Ryc. 3. Silny, częściowo dyfuzyjny odczyn na fosfatazę kwasną w wątrobie owcy z grupy III. Barwienie met. Gomoriego. Pow. ok. 250×



Ryc. 2. WzmóŜony odczyn na fosfatazę kwasną w strefie obwodowej zrazika wątrobowego owcy z grupy I. Barwienie met. Gomoriego. Pow. ok. 250×

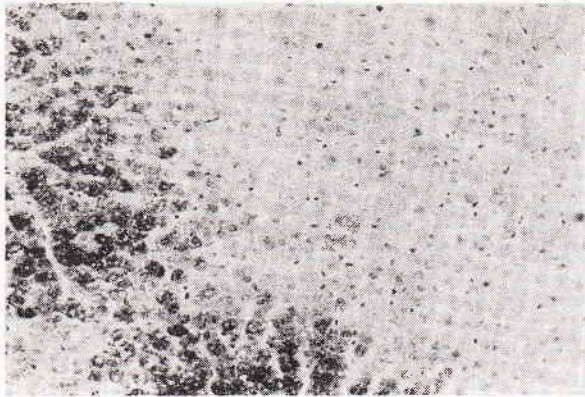


Ryc. 4. WzmóŜony odczyn na fosfatazę zasadową w naczyniach strefy środkowej zrazika owcy z grupy I. Barwienie met. Gomoriego. Pow. ok. 250×

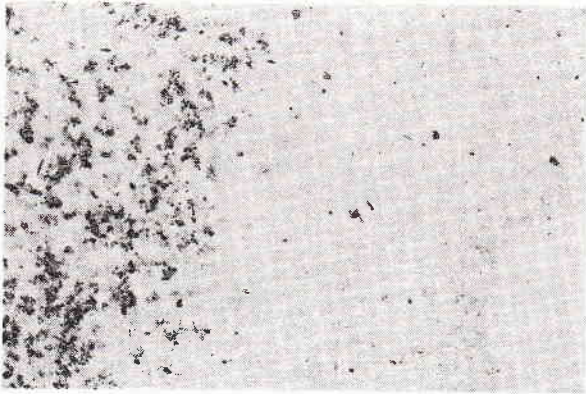
padku nasilenie odczynu było nieco większe niż u pozostałych zwierząt tej grupy.

Fosfataza zasadowa. W wątrobie pobranej przyżyciowo od zwierząt grupy I u 4 owiec stwierdzono, w porównaniu z grupą kontrolną, wzmoczenie reakcji na fosfatazę zasadową w śródbłonku naczyń zatokowych zrazików. U pozostałych zwierząt tej grupy odczyn był słaby, równomierny w całym zraziku. W grupie II nasilenie odczynu było nieco większe, zwłaszcza w naczyniach zatokowych i kanalikach żółciowych strefy środkowej i pośredniej zrazików (ryc. 4). U zwierząt grupy III w dwóch przypadkach wystąpiło wyraźne obniżenie aktywności fosfatazy zasadowej w naczyniach zatokowych, a u jednej owcy odczyn był podobny do obserwowanego w grupie II. U wszystkich zwierząt tej grupy wystąpiło osłabienie odczynu w kanalikach żółciowych. W wątrobie zwierząt grupy I uśmiercanych po 30 dniach odczyn był niezbyt intensywny, nieco wzmoczony w naczyniach zatokowych strefy obwodowej zrazików. W kanalikach żółciowych odczyn był umiarkowany.

Glikogen. W wątrobie pobranej przyżyciowo od zwierząt grupy I u 4 owiec ilość glikogenu była duża, nieco mniejsza w strefie obwodowej zrazików. U pozostałych zwierząt w jednym przypadku obserwowano znaczny spadek ilości glikogenu, a w drugim zupełny jego brak. W grupie II wystąpił spadek ilości tego wielocukru w 2 przypadkach. Niewielkie ilości glikogenu występowały w pojedynczych komórkach strefy środkowej i obwodowej (ryc. 5). Wątroba trzeciej owcy nie zawierała zupełnie glikogenu. W grupie III w 2 przypadkach brak było glikogenu u jednej owcy wystąpił wyraźny spadek jego ilości, zwłaszcza



Ryc. 5. Mała ilość glikogenu w komórkach strefy obwodowej zrazika wątroby owcy z grupy II. Barwienie Besta. Pow. ok. 250×



Ryc. 6. Niewielka ilość tłuszczów w obwodowej strefie zrazika wątrobowego owcy z grupy I. Barwienie Sudanem IV wg met. Daddiego. Pow. ok. 250×

na obwodzie i w strefie pośredniej zrazików. W wątrobie owiec grupy I uśmiercanych po 30 dniach obserwowano małe ilości glikogenu u 4 zwierząt, natomiast u pozostałych 2 zwierząt ilość glikogenu była dość duża.

Tłuszcze. W wątrobie zwierząt grupy kontrolnej, a także pobranej przyżyciowo od zwierząt grupy I tłuszcze występowały w niewielkiej ilości. W 2 przypadkach kuleczki tłuszczów występowały jedynie w w strefie obwodowej zrazików (ryc. 6). W wątrobie pozostałych grup zwierząt, z wyjątkiem jednego przypadku w grupie III, nie stwierdzono obecności tłuszczów.

### Omówienie wyników

Przeprowadzone badania wykazały, że niedrożność jelita czczego wpływa w istotny sposób na metabolizm komórek mięszu wątroby. Wydaje się jednak, że ciężkie uszkodzenie komórek mięszu ma miejsce dopiero w 5—6 dniu niedrożności. Wyraźne zmiany morfologiczne w postaci zwyrodnienia mięszowego hepatocytów, a zwłaszcza martwicy jąder i komórek obserwowano przeważnie u zwierząt grupy II i III. Zmiany powyższe mają charakter nieodwracalny i mimo dużej zdolności wątroby do regeneracji, mogą w istotny sposób wpływać na jej czynność. Potwierdzeniem zachodzących zmian nekrobiotycznych w komórkach wątrobowych są także odczyny enzymatyczne, zwłaszcza zachowanie się fosfatazy kwaśnej. Enzym ten, zlokalizowany w lizosomach jest wykładnikiem ich stanu czynnościowego. Wzrost ilości fosfatazy kwaśnej jest wynikiem nasilenia procesów trawienia wewnątrzkomórkowego (2, 16). Obserwowany w doświadczeniu wzrost intensywności odczynu na fosfatazę kwaśną występował już w 4—5 dniu niedrożności, co jest uzasadnione wzmoczeniem funkcji odtruwającej narządu. Dopiero jednak w okresie 5—6 dnia niedrożności nasilenie odczynu na fosfatazę kwaśną obejmowało komórki całego zrazika wątrobowego i wzrastało do wystąpienia odczynu dyfuzyjnego, co wydaje się świadczyć o bardzo znacznym uszkodzeniu lizosomów, aż do ich rozpadu włącznie. Następnym tego jest występowanie w komórkach niekontrolowanych procesów litycznych, w tym także autolizy (18, 21). W tym aspekcie zrozumiały staje się fakt występowania komórek ulegających martwicy.

Dość wyraźne zmniejszenie się intensywności odczynu na fosfatazę kwaśną w wątrobie owiec grupy I po 30 dniach od przywrócenia drożności jelita przemawia za tym, że do 4—5 dnia niedrożności lizosomy, a tym samym komórki mięszowe nie uległy znacznemu uszkodzeniu i możliwy jest powrót do stanu fizjologicznego.

Drugi z badanych enzymów, fosfataza zasadowa, jak się wydaje nie odgrywa tak istotnej roli jak fosfataza kwaśna. Fosfataza zasadowa w komórkach mięszowych zlokalizowana jest głównie w błonie komórkowej, częściowo zaś w cytoplazmie i jądrze komórkowym (22). Bierze ona udział między innymi w aktywnym transporcie poprzez błony komórkowe (20, 23). Wy-

stępujący w trakcie doświadczenia w okresie 4—5 dnia niedrożności wzrost odczynu na fosfatę zasadową w naczyniach zatokowych strefy środkowej i częściowo pośredniej zrazików, można interpretować jako objaw wzmożenia transportu poprzez błony komórkowe do układu krwionośnego. Wydaje się jednak, że udział fosfatazy zasadowej jest stosunkowo niewielki i krótkotrwały, a główną rolę w usuwaniu produktów spalonej przemiany wewnątrzkomórkowej spełniają lizosomy.

Zaburzenia w przemianach wewnątrzkomórkowych hepatocytów znajdują także wyraz w odczynach na glikogen i tłuszczce (1, 9, 19). Glikogen między innymi wykazuje własności osłaniające komórkę, a jego brak czyni ją bardziej podatną na działanie niekorzystnych czynników i osłabia jej zdolności detoksykacyjne (12, 15). W przebiegu doświadczenia ilość glikogenu w komórkach mięszszowych zmniejszyła się, bądź też zniknął on całkowicie. Fakt, że nawet po przywróceniu drożności jelita i po 30 dniach prawidłowego żywienia w 4 przypadkach ilość glikogenu nie wracała do stanu wyjściowego może świadczyć o powolnym powrocie narządu do stanu prawidłowego.

Mała ilość tłuszczów, bądź też całkowity ich brak w wątrobie w czasie trwania niedrożności wydaje się wskazywać na wyczerpanie zasobów energetycznych organizmu, co jest spowodowane głównie nieprzyjmowaniem pokarmu. Utrzymujący się do 30 dnia obserwacji całkowity brak tłuszczów wskazuje na bardzo powoli postępującą odnowę zasobów energetycznych i znaczne wyczerpanie organizmu.

### Wnioski

1. Doświadczalna niedrożność jelita czczego wywiera znaczny, niekorzystny wpływ na wątrobę.
2. Uszkodzenie narządu jest bardzo wyraźne w okresie 5—6 dnia niedrożności.
3. Do 4 dnia trwania niedrożności istnieje możliwość przywrócenia prawidłowej czynności wątroby poprzez usunięcie przyczyny schorzenia.
4. Skutki choroby w odniesieniu do wątroby trwają co najmniej przez okres 30 dni.

### Piśmiennictwo

1. Atwal O. S.: J. comp. Path. 83, 115, 1973.
2. Barka T.: J. Histochem. Cytochem. 10, 231, 1962.
3. Boucomont D., Rosentiehl D., Tisserand R.: IX Congress inter. sur les maladies du betail. Paris 6—9 sept. 1976.
4. Czerwonka B.: Badania nad stanem czynnościowym wątroby u krów z urazowym zapaleniem czepca i otrzewnej poddanych zabiegowi rumenotomii. Praca dokt. AR Lublin 1976.
5. Dirksen G.: Dt. tierarztl. Wschr. 8, 197, 1959.
6. Dziuk H. E., Useniuk E. A.: J. Am. vet. med. Ass. 145, 348, 1964.
7. Fryc J.: Medycyna Wet. 27, 158, 1959.
8. Gingerich D. A., Mudrick P. W.: Am. J. vet. Res. 36, 663, 1975.
9. Gopinath C., Ford E. J. H.: J. Path. 100, 269, 1970.
10. Hammond D. B., Dziuk H. E., Useniuk E. A., Stevens C. E.: J. comp. Path. 74, 210, 1964.
11. Karpiński J.: Badania nad niedrożnością jelita cienkiego u owiec. Praca dokt. AR Lublin 1977.
12. Kądziołka A.: Medycyna Wet. 13, 93, 1962.
13. Kokociński A., Wołoszyński W., Fryc J.: Medycyna Wet. 32, 686, 1976.
14. De Moor A., Bouckaert J. H., Oyaert W.: Vlaams diergeneesk Tijdschr. 31, 193, 1962.

15. Myca Z.: Pat. polska 16, 427, 1965.
16. Novikoff A. B.: Folia morph. 12, 273, 1962.
17. Pienkowski M.: Annls Univ. Mariae Curie-Skłodowska Sect. DD 28, 209, 1973.
18. Schmidt M., Dmochowski A., Laskowski S., Czarnecki M.: Pol. Tyg. lek. 23, 224, 1969.
19. Torzecki Z.: Pat. polska 24, 365, 1973.
20. Wehr A.: Post. Hig. 13, 166, 1959.
21. Wysocki J.: Pol. Arch. Med. Wew. 35, 1031, 1963.
22. Vorbrodt A.: Folia morph. 7, 313, 1956.
23. Vorbrodt A.: Post. Hig. 13, 200, 1959.
24. Ziolo T., Ziolo I., Koper S., Kostyra J.: Annls Univ. Mariae Curie-Skłodowska Sect. DD 28, 17, 1973.

Adres autora: dr Andrzej Owczarewicz, ul. Krafcowa 76b/71, 20-356 Lublin.

Овчаревич А., Карпинский Я. — Оценка гистологических и гистохимических изменений в печени овец в ходе экспериментальной непроходимости тощей кишки.

Гистологическими и гистохимическими методами исследовали печень овец в ходе экспериментальной непроходимости тощей кишки. Наблюдали поведение кислой фосфатазы, щелочной фосфатазы, гликогена и нейтральных жиров. Для морфологической оценки органа изготовили срезы, окрашиваемые гематоксилином и эозином.

Показали, что непроходимость вызывает значительный рост активности кислой фосфатазы. Активность щелочной фосфатазы росла лишь в период 4—5 дней непроходимости. Количество гликогена и жиров отчетливо уменьшалось. В гистологическом исследовании наблюдали колликвационный некроз паренхиматозных клеток.

После восстановления проходимости кишки на 4—5 день болезни и через 30 дней правильного кормления животных, отметили возвращение к норме исследуемых параметров за исключением кислой фосфатазы, активность которой удерживалась на уровне несколько выше чем в контрольной группе.

Owczarewicz A., Karpiński J. — Evaluation of histological and histopathological lesions in the liver of sheep in the course of experimental jejunal occlusion.

It was examined histologically and histopathologically the liver of sheep with an experimental jejunal occlusion. The authors determined the activity of acid and alkaline phosphatases, the level of glycogen and neutral fats. Morphology of the liver was examined histologically in slices stained with hematoxyline and eosine.

It was found that jejunal occlusion caused a significant increase of acid phosphatase activity. The activity of alkaline phosphatase increased only in the first 4—5 days after occlusion. The level of glycogen and neutral fats diminished distinctly. Histologically was observed a colliquative necrosis of parenchymatous cells.

After restauration of jejunal passage at 4—5 days of the disease, and after 30 days of normal feeding all the examined parameters except acid phosphatase returned to normal values. The activity of acid phosphatase persisted on an increased level in comparison to control.

WILLIAMS J. E., BENSON S. T.: Przeżywalność *Salmonella typhimurium* w paszy i w ściółce kurcząt w trzech temperaturach. (Survival of *Salmonella typhimurium* in poultry feed and litter at three temperatures). Avian Dis. 22, 742—747, 1978 (4).

Pokarm oraz ściółkę po zanieczyszczeniu hodowlą *Salmonella typhimurium* inkubowano w temperaturze 11, 25 i 38°C. Po różnym okresie ekspozycji na te temperatury oznaczano czas przeżycia salmoneli. Maksymalny czas przeżycia *S. typhimurium* w pokarmie i w ściółce w temperaturze 11°C wynosił 552 dni. W temperaturze 25°C przy wilgotności względnej 51% w pokarmie wynosił on 495 dni, w ściółce 544 dni, zaś w temperaturze 38°C przy wilgotności względnej 27% w pokarmie 40 dni, w ściółce 13 dni.

G.