

STUDIUL MICROSCOPIC AL FICATULUI DE ȘOBOLAN DUPĂ ADMINISTRAREA CLORURII DE DICLORACETIL

Stela Roșca, Angela Szövérfy, Gh. Roșca, Dana Țigănescu

Prezenta lucrare se înscrie într-un domeniu de mare actualitate, acela al substanțelor pesticide, substanțe de mare interes economic și, implicit, sanitar.

Pesticidele, pe lângă beneficiul incontestabil adus agriculturii, prezintă și un grad veritabil de nocivitate, ceea ce ridică în permanență interesul și preocuparea pentru cercetarea acestora și pentru aplicațiile lor.

Clorura de dicloracetil, compus intermediar de sinteză, este un produs în general puțin studiat din punctul de vedere al acțiunii sale asupra organismelor umane și animale. În bibliografia conspectată de noi au lipsit astfel de date.

Ca formulă chimică: $\text{Cl}_2\text{CH}-\text{COCl}$, un compus intermediar obținut în cursul sintezei „N,N-dialil-dicloracetamidei”, utilizat pentru obținerea unei selectivități sporite a unor erbicide (F. Y. Chang, 1972). Este un lichid clar, viscos a cărui aplicare orală de DL_{50} este de 4450 mg/kg corp pentru șobolanul mascul și de 2540 mg/kg corp pentru șobolanul femelă.

Studiul acțiunii acestei substanțe asupra animalelor de laborator (șobolani) reprezintă o parte din lucrarea contractată prin convenție de colaborare științifică pe anul 1980 cu Institutul de igienă și sănătate publică din Cluj-Napoca.

Material și metodă

Am realizat un experiment subacut, cu șobolani Wistar proveniți de la Biobaza I.I.S.P. Cluj-Napoca, utilizând animale tinere, de ambele sexe, cu greutatea de 70—150 g. Cei 30 de șobolani utilizați în experiment au fost împărțiți în trei loturi, după cum urmează:

a) *Lotul martor*, alcătuit din 10 șobolani (5 masculi și 5 femele), care au fost ținuți în laborator pentru animale al disciplinei noastre, primind zilnic îngrijire și hrană corespunzătoare. Alimentația s-a făcut întotdeauna dimineața și la prînz.

b) *Lotul D-1*, compus din 10 șobolani (5 masculi = DM-1 și 5 femele = DF-1), la care s-a administrat zilnic, timp de o lună, din sol. de clorură de dicloracetil în diluție de 10^{-6} din DL_{50} . Diluția s-a făcut în Oleum helianthi, administrat pe cale orală, în lapte, în doză de 1 ml/kg corp. Administrarea s-a făcut întotdeauna pe nemincate, dimineața și după amestecarea susținută a laptelui cu soluția de substanță activă. La începutul experimentului și, apoi, de două ori pe săptămînă, fiecare șobolan a fost cîntărit și așezate câte 5 animale într-o cușcă. Celor 5 animale li s-a administrat cantitatea corespunzătoare greutății lor, într-o cutie petri.

Animalele au fost supravegheate pentru a consuma în totalitate amestecul primit și numai după consumul acestuia primeau apoi și hrana prevăzută în rația zilnică obișnuită, descrisă la lotul martor.

c) *Lotul D-5*, compus din 10 șobolani (5 masculi — DM-5 și 5 femele — DF-5), la care s-a administrat, în aceleași condiții, soluție de clorură de dicloracetil în concentrație de 5% din DL₅₀. Condițiile de întreținere și hrană au fost cele descrise la loturile anterioare.

În a 28-a zi a experimentului animalele au fost sacrificate după o anestezie profundă cu eter apoi, după laparotomie, s-a recoltat ficatul din care am prelevat fragmente pentru prelucrare histologică. Fixarea s-a făcut în formol neutru 10% pentru tehnicile uzuale de histologie și în soluție Carnoy pentru tehnicile de histochimie. Piesele fixate au fost apoi incluse în parafină și secționate la grosimea de 7 microni. Pe secțiunile obținute s-au efectuat următoarele colorații histologice și histochimice: hematoxilină-eozină, PAS, PAS-alcian, metil-grün-pironină.

Rezultate și discuții

a) *Lotul martor*. Colorația cu hematoxilină-eozină ne-a permis să delăm la două din animalele sublotului martor-masculi și la un animal din sublotul martor-femele, modificări morfologice în majoritatea spațiilor porte, sub forma unor infiltrante difuze, inflamatorii rotundo-celulare, de o intensitate variabilă de la un spațiu port la altul, pe alocuri cu tendință de extindere a procesului și perilobular (fig. nr. 1—2). În unele cazuri acest proces este asociat și cu microfocare de necroză a hepatocitelor, însoțite de o reacție histolinfocitară în jur. Aceste focare sînt localizate și dispersate intralobular. Din precauție, animalele ce prezentau leziuni severe, le-am exclus din lot, ca animale de referință.

La restul animalelor examinate arhitectura lobulară este păstrată, iar spațiul port îmbracă aspectul normal. Mici aglomerări rotundo-celulare dispuse în citeva spații porte și/sau intralobular mai sînt prezente, dar cu intermitență (la 3 din 8 animale).

Colorația Brachet (metil-grün-pironină) evidențiază o pironinofilie de aspect normal în hepatocite cu deosebiri nesemnificative ca intensitate. În spațiile porte cu țesut conjunctiv interlobular mai evident, se remarcă prezența unui număr variabil (2—6) de celule cu citoplasmă pironinofilă de aspect omogen și de intensitate medie. Celulele pironinofile sînt prezente în număr mai mare în zonele de infiltrație inflamatorie atît la cele din spațiul port cît și la cele intralobulare.

Colorația PAS evidențiază o heterogenitate a reacției, caracterizată în general printr-o inegalitate de intensitate (de la intensitate medie ++, pînă la intensitate mică+), variabilă de la animal la animal și pentru același animal, de la lobul la lobul, precum și de la hepatocit la hepatocit.

Colorația PAS-alcian relevă absența mucopolizaharidelor acide din hepatocite și din structurile spațiilor porte, cu excepția zonelor cu celularitate inflamatorie crescută unde numărul celulelor alcian pozitive este mai mare decît în zonele de aspect normal unde am remarcat prezența a cel mult două sau trei celule cu citoplasmă alcian slab pozitivă.

La nici una din colorațiile amintite mai sus nu am găsit diferențe semnificative între șobolanii masculi și femele.

b) *Lotul D-1*, tratat cu 1⁰/₁₀ din DL₅₀, colorația cu hematoxină-eozină evidențiază arhitectura lobulară păstrată, fără să remarcăm modificări mai semnificative față de martor a structurilor hepatice lobulare și portale. Totuși, la 8 din 10 animale examinate pe un fond de aspect normal am remarcat prezența fie a unor microfocare rotundo-celulare dispersate intralobular, unele însoțite și de necroze hepatocitare, altele cu sau numai cu modificări ale spațiilor porte caracterizate printr-o creștere a celularității (limfo-histioplasmocitară), fără tendință de extindere perilobulară. Aspectele remarcate, deși minore ca intensitate și extindere, sînt totuși demne de remarcat, mai ales la femele (fig. nr. 3).

Colorația Brachet nu relevă modificări semnificative față de lotul martor.

Colorația PAS nu evidențiază modificări semnificative între animalele celor două subloturi (mascul și femel). Ca aspect general reacția PAS este intensă, cu mici variații de la lobul la lobul și între hepatocitele aceluiași lobul.

Colorația PAS-alcian este, ca și colorația Brachet, fără diferențe semnificative față de lotul martor, la ambele sexe.

c) *Lotul D-5*, tratat cu 5⁰/₁₀ din DL₅₀, colorația cu hematoxină-eozină ne permite să evidențiem o arhitectură lobulară păstrată, fără modificări semnificative față de lotul M și lotul D-1. Și la acest lot apar aceleași aspecte, ca la lotul D-1, respectiv focare de infiltrație rotundo-celulare ale spațiilor porte sau intralobulare însă reduse ca număr și intensitate, uneori situîndu-se la limită între normal și patologic. La un singur animal am găsit o reacție inflamatorie mai extinsă, cu prezența celulelor gigante de corp străin (fig. nr. 4).

Colorația Brachet nu relevă modificări semnificative nici față de lotul martor și nici față de lotul D-1.

Colorația PAS arată aspecte similare descrise la loturile anterioare, cu aceeași heterogenitate de intensitate (PAS+ — PAS++ și repar-tizare).

Colorația PAS-alcian nu evidențiază modificări față de cele două loturi și nici diferențe la cele două sexe de animale tratate.

Analizînd în mod comparativ rezultatele obținute la cele 3 loturi de animale (M, D-1 și D-2), considerăm că în cazul lotului martor, deși am eliminat animalele care au prezentat leziuni patologice concludente, restul animalelor, prin modificările minime semnalate de noi (aglomerări rotundo-celulare intralobulare sau în spațiile porte) situate uneori la limita dintre patologic și normal, demonstrează că acest lot nu este ideal ca lot martor de referință.

La animalele loturilor tratate cu clorură de dicloracetil (D-1 și D-5) aspectele morfologice evidențiază prin colorațiile histologice și histochimice efectuate de noi nu relevă modificări cu semnificație patologică indusă de substanța experimentată, deoarece nu am remarcat o modificare constantă și caracteristică.

Aglomerările rotundo-celulare intralobulare sau în spațiile porte, prin inconstanța lor și prin faptul că îmbracă aceleași forme ca la lotul martor, le considerăm ca modificări preexistente necauzate de clorura de dicloracetil.

Restul colorațiilor efectuate, Brachet, PAS-alcian nu diferă ca intensitate la cele trei loturi (martor și tratate). Colorația PAS în schimb este neconcludentă prin faptul că este de aspect heterogen și diminuată chiar la lotul martor, ceea ce ne face să afirmăm că este cauzată de alți factori și nu de substanța experimentată.

În concluzie, pe baza celor discutate mai sus considerăm că administrarea, timp de patru săptămâni, a clorurii de dicloroacetyl în cele două concentrații (1^0_0 și respectiv 5^0_0 din DL_{50}) nu afectează morfologia ficatului la cele două sexe de animale și nu exacerbează pe cele preexistente.

Bibliografie

1. Cotrău M.: Toxicologie. Fasc. V, I.M.F. Iași, 1975; 2. Baciu T.: Îndrumător pentru folosirea pesticidelor. Ed. Ceres, 1979; 3. Coloși Esca Doina: Cercetări toxicologice asupra substanțelor fitofarmaceutice de tipul organo-tiofosforic. Teză de doctorat. I.M.F. Cluj, 1971; 4. Gavăț Viorica: Chirurgia (1978), 82 4; 5. Matsumura F.: Toxicology of pesticides. II-nd. Ed. Plenum Press, New York — London, 1976, 20; 6. Roșca Stela, Roșca Gh., Almăsi Susana, Jung I., Szövérfy Angela: Histologia ficatului în intoxicațiile letale cu paration. Lucrare comunicată la Simpozionul de morfologie normală și patologică. Cluj-Napoca, mai 1978; 7. Roșca Gh., Szövérfy Angela, Roșca Stela, Szabó I.: Modificări cromozomiale la șobolanii intoxicați cu 2,4-D. Lucrare comunicată la Sesiunea anuală de valorificare a cercetării științifice a Centrului de cercetări medicale, Tirgu Mureș, 8 aprilie 1979; 8. Spector W. S.: Handbook of toxicology. Saunders, Philadelphia, 1956; 9. Zamfir Gh.: Efectele poluării și prevenirea ei. Ed. Academiei R.S.R., București, 1979.

Sosit la redacție: 1 decembrie 1981

Stela Roșca, Angela Szövérfy, Anna R. Găbos, Gh. Roșca, Dana Țigănescu

MICROSCOPIC STUDY OF THE RAT LIVER AFTER DICHLOROACETYL-CHLORIDE ADMINISTRATION

Dichloroacetyl chloride ($Cl_2CH-COCl$) is considered a substance producing an increased selectivity of certain herbicides.

In this paper the authors' aim is to test the action of this substance upon the liver of rats in the conditions of a subacute experimental model.

For this purpose they made use of 30 young Wistar rats (from Biobaza I.I.S.P., Cluj-Napoca, Romania) of both sexes, weighing 70–150 g, divided in 3 groups: 1. Control group. 2. Group treated with 1^0_0 DL_{50} concentration dichloroacetyl-chloride. 3. Group treated with 5^0_0 DL_{50} concentration dichloroacetyl-chloride. The conditions of care, feeding and administration were the same in all the groups.

The liver processed by usual techniques (haematoxylin, eosin staining), and some histochemical (PAS, PAS+Alcian, methyl green pyronin) stainings made it possible to reveal certain modifications induced by the substance experimented. The chronic inflammatory lesions are also present in the control group, just like in the treated ones, having the same forms and intensities, so they are considered pre-existent.

In conclusion, dichloroacetyl-chloride does not show any toxic effect on the liver as far as the above concentrations and methodology are concerned.