

## Piśmiennictwo

1. Aiaprank D.H., Knighton D.R., Folkman J.: Vascularization of normal and neoplastic tissue grafted to the chick chorioallantois. *Acta J. Pathol.* 79: 597-610 (1975). — 2. Folkman J., Langer R.J., Haudenschild C., Taylor S.: Angiogenesis inhibition and tumor regression caused by heparin or a heparin fragment in the presence of cortisone. *Science* 221: 719-725 (1983). — 3. Gerke E., Spitznas M., Brodde G.E.: The role of lactic acid in retinal neovascularization. *Graefes' Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 200: 79-84 (1976). — 4. Glaser B.M.: Extracellular Modulating Factors and the control of intracellular neovascularization. *Arch. Ophthalmol.* 106: 603-607 (1988). — 5. Glaser B.M., Campochiaro P.A., Davis J.L., Jordan J.A.E.: Retinal pigment epithelial cells release inhibitors of neovascularization. *Ophthalmology* 94: 780-784 (1987). — 6. Glaser B.M., D'Amore P.A., Michels R.G., Brunson S.R., Fongselau A.H., Elie T., Pitz A.: The demonstration of angiogenic activity from ocular tissues. *Ophthalmology* 87: 440-446 (1980). — 7. Grajman C.M.: Possible significance of the isoenzymes of lactic dehydrogenase in the retina of the rat. *Nature* 211: 615-616 (1966). — 8. Jäms G.: Studies on the mechanism of the retinal neovascularization. *Acta Ophthalmol. Scand.* 48: 75-82 (1964). — 9. Jäms G.: The role of increased lactic acid concentration in neovascularization. *Acta Ophthalmol. Scand.* 32: 97-105 (1984).

Prasa wpłynęła: 16.03.1994

10. Imre G.: The role of lactic acid in the mechanism of neovascularization. w: Ben Ezra D., Ryan S.J., Glaser B.M., Murphy R.B. (red.): *Ocular circulation and neovascularization*. Doc. Ophthalmol. Proceed. Ser. Dordrecht, Boston, Lancaster: Nijhoff, Junk, 1987, str. 511-516.

11. Kissam R.D., Hill C.R., Garner A., Philips P., Kumar S., Weiss J.B.: A low-molecular-weight angiogenic factor in cat retina. *Brit. J. Ophthalmol.* 66: 165-169 (1982). — 12. Litty G.A., Thompson G.C., Gallup J.Y., Mell R.J., Pitz A., Fongselau A.: Vitreous: an inhibitor of retinal extract — induced neovascularization. *Invest. Ophthalmol.* 23: 52-56 (1983). — 13. Pitz A.: Clinical and experimental studies on retinal neovascularization. *Amer. J. Ophthalmol.* 94: 715-743 (1982). — 14. Prost M.: Experimental studies on the pathogenesis of retinopathy of prematurity. *Brit. J. Ophthalmol.* 72: 363-367 (1988). — 15. Prost M.: Experimental studies on the angiogenic activity of the detached retina. *Graefes' Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 228: 83-85 (1990). — 16. Schulz G.S., Grant M.B.: Neovascular growth factors. *Eye* 5: 170-180 (1991). — 17. Shalhoub S., Kumar S.: Quantitation of angiogenic factor in bovine retina and tumor extracts by means radioimmunoassay. *Brit. J. Ophthalmol.* 76: 286-291 (1983).

## Anna Monies i Marek Prost

# Badania doświadczalne nad uszkodzeniem tkanek oka w zatruciu kobaltem

### Experimental studies on the lesions of eye tissues in cobalt intoxication

**Summary:** The aim of the paper was to examine the influence of cobalt compound on rabbit eye tissues. The lesions in the eyeball were evaluated basing on ophthalmological examination and in light and electron microscopes. The studies revealed that cobalt intoxication caused the following damages in the rabbit retina: oedema and atrophy of nerve fibres, lesions of ganglion, amacrine, bipolar, horizontal cells and nucleus of photoreceptors. Also, obliteration of choroidal vessels and changes in iris and ciliary body were found. Cataract developed in 42% of rabbits and 25% chronic purulent endophthalmitis in 25%. The results of these experimental investigations indicate that further studies on the influence of this metal on human eye tissues are necessary.

Hasła: kobalt, zatrucie, uszkodzenie siatkówki, zaćma, zapalenie wnętrza oka, króliki

Key words: cobalt, poisoning, retinal damage, cataract, endophthalmitis, rabbits

Kobalt i jego związki po przedostaniu się do organizmu człowieka mogą się w nim kumulować powodując uszkodzenie różnych narządów wewnętrznych. Zatrucie tym metalem ma najczęściej przebieg przewlekły i stwierdza się w nim uszkodzenie płuc, policytemię, niedoczynność tarczycy, neuropatie obwodowe, kardiomiopatie, uszkodzenie trzustki i hiperlipemię<sup>4, 14</sup>. Ma on także działanie teratogenne i mutagenne<sup>3</sup>. Wykonane przez nas uprzednio badania wykazały, że kobalt może gromadzić się w tkankach oka, zaś jego stężenie w niektórych częściach gałki jest porównywalne z tym jakie wykryto w sercu i płucach, a więc w narządach, w których najczęściej występują zmiany w trakcie zatrucia tym pierwiastkiem<sup>13</sup>. Przedmiotem niniejszej pracy są badania uszkodzeń tkanek oczu zwierząt doświadczalnych w ostrym i przewlekłym zatruciu związkami kobaltu podawanymi pozajelitowo.

#### Material i metodyka

##### I. Badania zmian w gałce ocznej w ostrym zatruciu kobaltem

Badania przeprowadzono na 5 królikach szarych o wadze około 3 kg, którym podawano dootrzew-

nowo 5% roztwór chlorku kobaltu w dawce 100 mg/kg wagi ciała. Po trzech godzinach badano stan oczu, zwierzęta zabijano i usuwano gałki oczne. Tkanki pobrane z prawego oka krojono na skrawki półcienkie, które barwiono 1% błękitem metylenowym z 1% azurem II w 1% boraksie oraz na skrawki ultracienkie, które barwiono przy pomocy preparatu Ultrastain 1 i 2 (f-my LKB — Szwecja). Lewe gałki oczne po utrwaleniu barwiono hematoksyliną i eozyną.

##### II. Badania zmian w gałce ocznej w przewlekłym zatruciu kobaltem

Badania przeprowadzono na 10 królikach szarych o wadze około 3 kg. Zwierzętom podawano codziennie przez 25 dni dootrzewnowo 5% roztwór chlorku kobaltu w dawce 8 mg/kg wagi ciała. Po 25 dniach badano stan oczu, króliki zabijano, pobierano gałki oczne i wykonywano preparaty półcienkie, ultracienkie i barwiono hematoksyliną i eozyną w sposób opisany powyżej.

##### III. Grupa kontrolna

Grupę kontrolną stanowiło 5 królików szarych o wadze około 3 kg, którym pobrano gałki oczne i przygotowano do dalszych badań w sposób opisany powyżej.

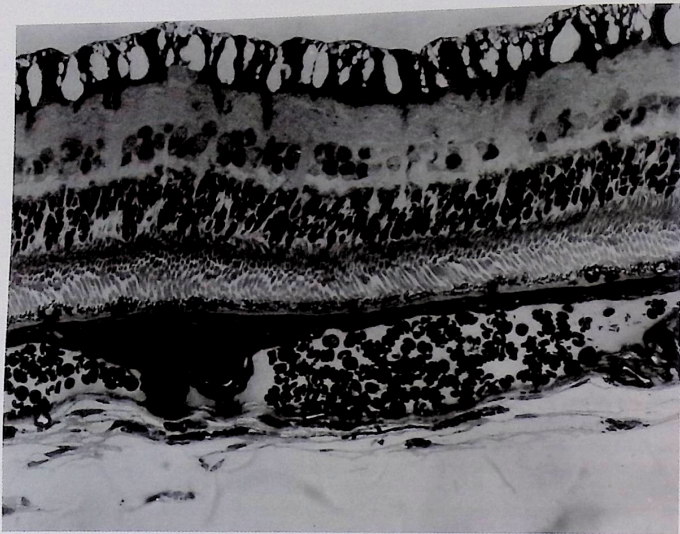
Z II Kliniki Okulistyki AM w Lublinie  
Kierownik: prof. dr hab. Jerzy Toczolowski

Reprint requests to:  
Prof. dr hab. Marek Prost  
ul. Chmielna 12 m. 6, 20-075 Lublin

**Survey of Ophthalmology** - Międzynarodowe Czasopismo Referatywne jest dwumiesięcznikiem drukującym przeglądy oraz prace poglądowe na temat najnowszych osiągnięć nauki i praktyki okulistycznej. Czasopismo jest wydawane w Bostonie (USA) i należy do jednego z najbardziej prestiżowych światowych czasopism okulistycznych.

Redakcja czasopisma wprowadziła ostatnio możliwość rocznej prenumeraty po obniżonej cenie 30 USD dla osób specjalizujących się w zakresie okulistyki; prenumerata dla pozostałych osób kosztuje 95 USD.

Osoby zainteresowane prenumeratą proszone są o pisemne zgłoszenia do prof. dr hab. Marka Prosta, członka międzynarodowego kolegium redakcyjnego Survey of Ophthalmology, II Klinika Okulistyki AM, ul. Chmielna 1, 20-075 Lublin



Ryc. 1. Obraz mikroskopowy siatkówki i naczyńki w ostrym zatruciu kobaltem. Widoczne liczne wodniczki w warstwie włókien nerwowych oraz poszerzenie i przekrwienie naczyńki. Pow. ok. 650  $\times$ . Barw. błękit metylenowy + azur

A. Monies, M. Prost



Ryc. 2. Obraz elektronograficzny warstwy włókien nerwowych i siatkówki w ostrym zatruciu kobaltem. Rozległe zmiany wodniczkowe oraz przestrzenie wypełnione płynem między włóknami. Pow. ok. 10000  $\times$

## Wyniki

### I. Badania zmian w gałce ocznej w ostrym zatruciu kobaltem

#### A. Przyżyciowe badania gałek ocznych

Wykonane badania wykazały jedynie przekrwienie tęczęwki.

### B. Badania w mikroskopie świetlnym

Największe zmiany stwierdzono w siatkówce w warstwie włókien nerwowych, w obrębie której widoczne były liczne, miejscami łączące się ze sobą wodniczki, powodujące zaburzenia prawidłowego układu i budowy włókien i komórek zwojowych (ryc. 1.). W naczyńcówce stwierdzono bardzo znacznie poszerzone naczynia krwionośne wypełnione krwinkami czerwonymi (ryc. 1). Znaczne przekrwienie i zakrzepy w naczyniach widoczne było również w tęczęwce i ciele rzęskowym.

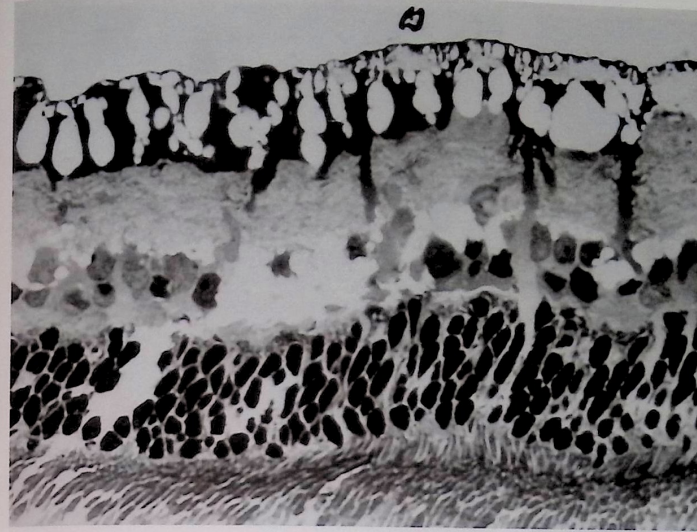
### C. Badania w mikroskopie elektronowym transmisyjnym

W warstwie włókien nerwowych obserwowano liczne zmiany wodniczkowe, występujące przede wszystkim pomiędzy wypustkami komórek Müllera (ryc. 2). Przestrzenie wypełnione płynem stwierdzono również między poszczególnymi włóknami nerwowymi (ryc. 2.), które miejscami były obrzękłe. W komórkach zwojowych i dwubiegunowych widoczne było poszerzenie przestrzeni okołojądrowej i obrzęk mitochondriów.

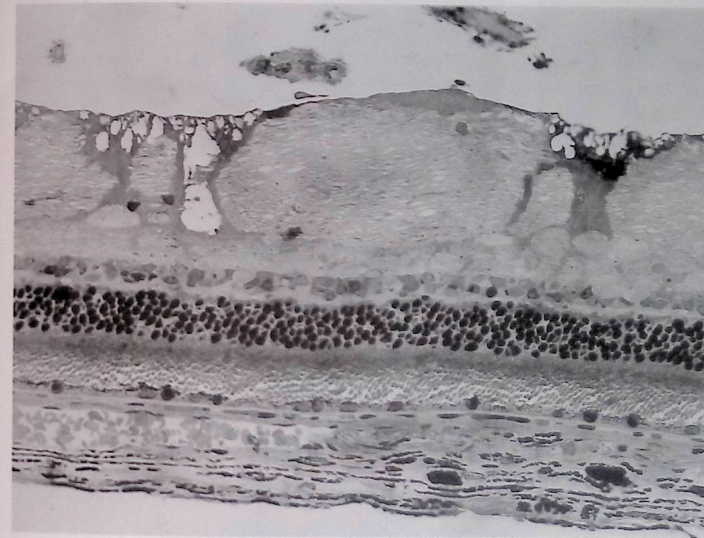
## II. Badania zmian w gałce ocznej w przewlekłym zatruciu kobaltem

### A. Przyżyciowe badania gałek ocznych

W trakcie podawania kobaltu w 25% oczu doszło do rozwoju ropnego zapalenia wnętrza gałek ocznych. Badanie płynu ropnego pobranego z tych gałek nie wykazało obecności bakterii. U pozostałych zwierząt zmiany ograniczały się do przekrwienia tęczęwki oraz ognisk obrzęku siatkówki. W 42% oczu widoczne było zmętnienie w tylnym biegunie soczewki.



Ryc. 3. Obraz mikroskopowy siatkówki w przewlekłym zatruciu kobaltem. Widoczne liczne zmiany wodniczkowe w warstwie włókien nerwowych oraz jędrzastej wewnętrznej i zewnętrznej. Pow. ok. 2000  $\times$ . Barw. błękit metylenowy + azur



Ryc. 4. Obraz mikroskopowy siatkówki i naczyńki w przewlekłym zatruciu kobaltem. Rozległe zmiany gąbczaste i wodniczki w warstwie włókien nerwowych. W naczyńcówce widoczna jest obliteracja naczyń i zwiększenie ilości melanocytów. Pow. ok. 1300  $\times$ . Barw. błękit metylenowy + azur

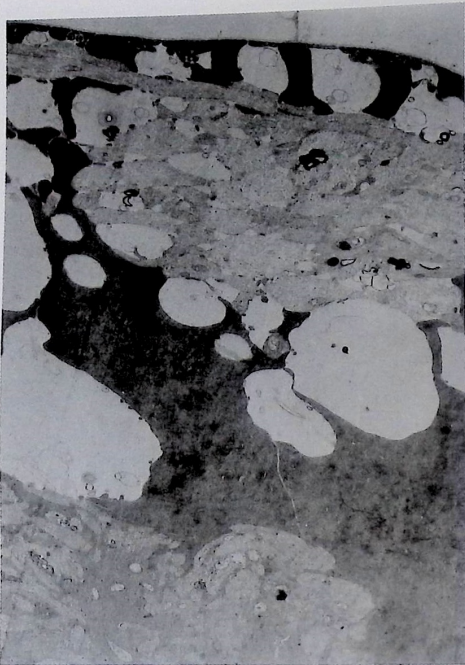
### B. Badania w mikroskopie świetlnym

W warstwie włókien nerwowych siatkówki widoczne były liczne, zlewające się ze sobą zmiany wodniczkowe (ryc. 3). Występowały one również w warstwie komórek zwojowych, jędrzastej wewnętrznej, a czasami nawet jędrzastej zewnętrznej (ryc. 3). Zmiany te powodowały naruszenie integralności tych warstw i zatarcie prawidłowej budowy. W wielu oczach w warstwie włókien nerwowych występowały gąbczaste struktury, które czasami zajmowały duże obszary w tej warstwie (ryc. 4). Badania w mikroskopie elektronowym pozwoliły na ustalenie, że są to obrzękłe włókna nerwowe.

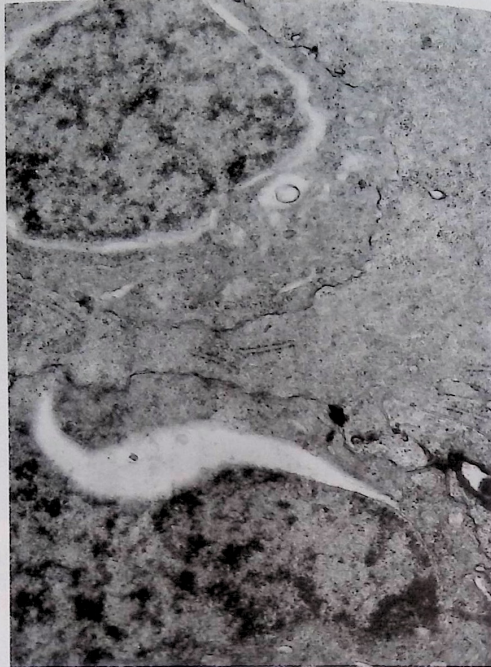
Naczyńcówka była pogrubiała i w jej obrębie stwierdzano znaczne zmniejszenie liczby drożnych naczyń krwionośnych oraz zwiększenie liczby melanocytów z barwnikami.

Tęczęwka i wyrostki rzęskowe były przekrwione.

W oczach z ropnym zapaleniem wnętrza gałki obserwowano całkowity zanik siatkówki i naczyńki. Ich miejsce zajmowała rozrastająca tkanka łączna z licznymi elementami układu białokrwinkowego i fibroblastami, która zajmowała także ciało szkliste.



Ryc. 5. Obraz elektronomikroskopowy warstwy włókien nerwowych siatkówki. Liczne wodniczki i obrzęknięte włókna nerwowe. Pow. ok. 1300 ×



Ryc. 6. Obraz elektronomikroskopowy siatkówki w przewlekłym zatruciu kobaltem. Poszerzenie przestrzeni okołojądrowej dwóch leżących obok siebie komórek zwojowych. Pow. ok. 15000 ×

#### C. Badania w mikroskopie elektronowym transmisyjnym.

Największe zmiany występowały w warstwie włókien nerwowych. W jej obrębie obecne były bardzo liczne wodniczki powstające poprzez rozsuniecie wypustek komórek Müllera oraz w miejscu uszkodzonych włókien (ryc. 5). Wiele włókien nerwowych było obrzękniętych, zaś część z nich uległa zanikowi. Obrzęknięte włókna miały mniejszą gęstość elektronową, co powodowało, że w preparatach półcienkich były one widoczne jako gąbczasta struktura. W komórkach zwojowych obserwowano poszerzenie przestrzeni okołojądrowej oraz zmiany wodniczkowe w cytoplazmie (ryc. 6).

Poszerzenie przestrzeni okołojądrowej widoczne było również w komórkach amakrynowych, dwubiegunowych, horyzontalnych oraz w warstwie jądrazstej wewnętrznej. W warstwie jądrazstej wewnętrznej występowały także zmiany wodniczkowe. Segmenty wewnętrzne i zewnętrzne fotoreceptorów oraz nabłonek barwnikowy nie były zmienione. W naczyniówce widoczne było zwiększenie liczby melanocytów z barwnikiem układającym się w pasma i obliteracja naczyń.

#### Omówienie

W piśmiennictwie jest bardzo mało danych dotyczących wpływu kobaltu na tkanki oka. Opisano tylko jeden przypadek zmian ocznych u chorego

lezonego kobaltem z powodu pancytopenii, u którego wystąpiły ogniska waty i krwotoki siatkówkowe, zanik nerwu wzrokowego, zaburzenia perfuzji naczyniówki i koncentryczne zawężenie pola widzenia<sup>11</sup>. W niektórych opracowaniach są także wzmianki, że metal ten może powodować zaćmę u ludzi<sup>5,15</sup>. Badania na zwierzętach wykazały, że związki kobaltu powodują wzrost zawartości kwasów nukleinowych, fosfolipidów i cholesterolu w siatkówce i naczyniówce<sup>7,12</sup>, zaś ciała wewnątrzgałkowe zawierające ten metal powodują rozwój ropnego zapalenia wnętrza gałki ocznej<sup>9</sup>.

Wyniki niniejszej pracy wskazują, że kobalt może powodować znaczne zmiany w tkankach oka. W zatruciu ostrym obserwowano obrzęk powierzchownych warstw siatkówki oraz przekrwienie całej błony naczyniowej. W zatruciu przewlekłym stwierdzono natomiast także objawy uszkodzenia tkanek, przede wszystkim warstwy włókien nerwowych, zaś w mniejszym stopniu prawie wszystkich elementów komórkowych siatkówki, oraz obliterację naczyń naczyniówki. U prawie połowy królików obserwowano zmiany w soczewce, zaś u 25% doszło do rozwoju ropnego zapalenia wnętrza gałki ocznej.

Zmiany obserwowane przez nas u królików były podobne do opisanych u chorego z zatruciem kobaltem<sup>11</sup>. Ogniskom waty i zanikowi nerwu wzrokowego u pacjenta odpowiadały widoczne w preparatach

obrzęki i uszkodzenie włókien nerwowych siatkówki. Natomiast stwierdzone obliteracje naczyń naczyniówki, u chorego objawiały się zaburzeniami perfuzji naczyniówkowej w angiografii fluoresceinowej.

Występowanie zapaleń wewnątrzgałkowych nie było do tej pory wiązane z zatruciem kobaltem, chociaż ciała wewnątrzgałkowe składające się z tego metalu mogą powodować ropne zapalenia wnętrza gałki ocznej<sup>9</sup>.

Możliwe, że przy podawaniu mniejszych dawek występują mniej zaawansowane, przewlekłe zmiany zapalne błony naczyniowej. Schorzenia te występują dość często i ich etiologia w dużej części nie jest wykrywana.

U 42% królików w przebiegu przewlekłego zatrucia obserwowano rozwój zaćmy. W ostatnim okresie czasu stwierdza się znaczne obniżenie wieku występowania tego schorzenia u ludzi<sup>8</sup>, co wiąże się między innymi z zatruciem środowiska naturalnego. W oparciu o wyniki niniejszej pracy można wysunąć przypuszczenie, że obniżenie wieku występowania zaćmy może być częściowo spowodowane zwiększającym się zanieczyszczeniem naszego środowiska przez związki kobaltu.

W chwili obecnej trudno jest dokładnie określić jakie są przyczyny opisanych zmian w gałce ocznej w zatruciu kobaltem. Obrzęk i uszkodzenie włókien nerwowych może być spowodowane zahamowaniem szybkiego transportu aksoplazmatycznego przez kobalt, co było uprzednio obserwowane przez innych autorów<sup>10</sup>. Metal ten należy również do pierwiastków łatwo wiążących się z wieloma składnikami układu nerwowego<sup>6</sup>.

Może się on odkładać w błonach pre- i postsynaptycznych, mitochondriach i cytoskeletonie aksonów<sup>1</sup>. Powoduje on także uszkodzenie osłonek włókien mielinowych<sup>6</sup>. Zmiany w jądrach komórek siatkówki mogą być spowodowane uszkodzeniem struktury kwasów nukleinowych. Kobalt powoduje bowiem kondensację DNA<sup>17</sup>. Uszkodzenia gałki ocznej mogą być także wywołane zaburzeniami procesów oksydoredukcyjnych. Kobalt może się bowiem wiązać z grupami sulfhydrylowymi<sup>2</sup>, które odgrywają ważną rolę w tych procesach, jak również hamować czynność niektórych dehydrogenaz<sup>16</sup>.

Wyniki niniejszej pracy doświadczalnej wskazują wyraźnie, że związki kobaltu mają działania toksycz-

ne na narząd wzroku i mogą powodować różnego rodzaju zmiany w gałce ocznej. W związku z tym konieczne jest podjęcie dalszych badań w celu dokładniejszego poznania wpływu tego metalu na tkanki oczu u człowieka.

#### Piśmiennictwo

1. Bassemir U.K., Strausfeld N.J.: Cytology of cobalt-filled neurons in flies: Cobalt deposits at presynaptic and postsynaptic sites, mitochondria and cytoskeleton. *J. Neuropath.* 12: 949-970 (1993).
2. Domingo J.L.: N-acetyl-L-cysteine in acute cobalt poisoning. *Arch. Farmacol. Toxicol.* 11: 55-62 (1985).
3. Elinder C.G.: Health hazards from exposure to cobalt with special reference to carcinogenic, mutagenic and teratogenic effects. *Toxicol. Environ. Chem.* 7: 251-256 (1984).
4. Elinder C.G.: Cobalt. w: Friberg L., Norberg G.F. (red.): Handbook on the toxicology of metals. (Elsevier, Amsterdam 1979) str. 399-410.
5. Fraunfelder F.T.: Drug-induced ocular side effects and drug interactions. (Lea and Febiger, Philadelphia 1976) str. 192-196.
6. Gajkowska B., Bugera T.E., Smialek M.: Ultrastruktura mieliny ośrodkowego układu nerwowego szczura po zatruciu octanem kobaltowym. *Neuropat. Pol.* 23: 545-555 (1985).
7. Gruszczyńska M., Niebrój T.: Wpływ kobaltu na rozmieszczenie i skład lipidów w siatkówce i nerwie wzrokowym świnki morskiej. *Klin. Oczna* 89: 133-134 (1987).
8. Kaluzny J., Stankiewicz A., Mustal G., Żywałewski B.: Wiek chorych z zaćmą starczą i przedstarczą w Klinikach Okulistycznych Białegostoku i Bydgoszczy w latach 1985-1986. *Klin. Oczna* 90: 382-383 (1988).
9. Lauring L., Wergeland F.L.: Ocular toxicity of newer metals. *Milit. Med.* 135: 1171-1174 (1970).
10. Lavoie P.A., Bennet G.: Accumulation of 3H fucose-labelled glycoproteins in the Golgi apparatus of dorsal root ganglion neurons during inhibition of fast axonal transport caused by exposure of the ganglion to Co<sup>2+</sup>-containing or Ca<sup>2+</sup>-free medium. *Neuroscience* 8: 351-362 (1983).
11. Licht A., Oliver M., Rachmilewitz E.A.: Optic atrophy following treatment with cobalt chloride in a patient with pancytopenia and hypercellular marrow. *Israel J. Med. Sci.* 8: 61-66 (1972).
12. Niebrój T., Gruszczyńska M.: Wpływ kobaltu na zawartość i rozmieszczenie kwasów nukleinowych w siatkówce i naczyniówce świnki morskiej. *Klin. Oczna* 90: 302-303 (1988).
13. Monies A., Prost M.: Badania radiometryczne tkanek oka w doświadczalnym zatruciu kobaltem. *Klin. Oczna* 96: 141-143 (1994).
14. Taylor A., Marks V.: Cobalt: a review. *J. Human. Nutr.* 32: 165-177 (1978).
15. Walsh F.B., Hoyt W.F.: Clinical neuro-ophthalmology. t. III. (Williams and Wilkins, Baltimore 1969) str. 2686-2687.
16. Webb M.: The biological action of cobalt-metals. IV. Inhibition of alfa-oxyglutarate dehydrogenase. *Biochim. Biophys. Acta.* 89: 431-446 (1964).
17. Widom J., Baldwin R.L.: Cation-induced teroidal condensation of DNA. *Studies with Co<sup>3+</sup>(NH<sub>3</sub>)<sub>6</sub>*. *J. Med. Biol.* 144: 431-453 (1980).

Praca wpłynęła: 11.04.1094