

Zakład Histologii i Embriologii. Instytut Biologiczno-Morfologiczny.
Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: prof. dr hab. Józef Staszyc

Alicja ZARĘBSKA

Wpływ Biseptolu 480 na komórki części zewnątrzwydzielniczej trzustki po chirurgicznym usunięciu płata wątroby

Влияние Бисептола 480 на клетки внесекретной части поджелудочной железы
после операционного удаления доли печени

The Influence of Biseptol 480 on the Exocrine Cells of the Rat Pancreas
after the Excision of Hepatic Lobe

Biseptol 480 (Co-trimoxazol, Bactrim, Septrim) jest preparatem złożonym z sulfonamidu — sulfametoksazolu oraz pochodnej dwuamidopirymidyny — trimetoprimu (2-4 dwuamino-5-pirymidyny). Lek ten często stosuje się do zwalczania zakażeń bakteryjnych, zwłaszcza zakażeń układu moczowego (4, 11). Mechanizm jego działania jest złożony. Sulfametoksazol działa antagonistycznie do kwasu p-aminobenzoowego (PABA), natomiast trimetoprim hamuje reduktazę kwasu foliowego. Wynikiem działania obu części składowych preparatu jest hamowanie syntezy puryn w komórkach bakteryjnych. Łączne podawanie trimetoprimu i sulfametoksazolu powoduje potencjalizację efektu przeciwbakteryjnego.

Zaburzenia czynnościowe przewodu pokarmowego, stwierdzane niekiedy po terapii sulfonamidami, uzasadniają celowość naszego doświadczenia, zwłaszcza że istnieją przeciwwskazania co do stosowania leków z tej grupy w przypadku niewydolności wątroby. Trzustka jest obok wątroby niezbędnym gruczołem dla ustroju. Komórki części zewnątrzwydzielniczej produkują sok trzustkowy, bogaty w enzymy rozkładające białka (trypsynę, chymotrypsynę, elastazę, karboksypeptydazy), cukry (amylazę), tłuszcze (lipazę) oraz kwasy nukleinowe (DNA-zę i RNA-zę).

MATERIAŁ I METODYKA BADAŃ

Doświadczenie przeprowadzono na szczurach białych płci męskiej o c.c. ok. 300 g. Zwierzęta zostały podzielone na cztery grupy: grupa kontrolna — 3 szczury nie operowane, nie otrzymywały Biseptolu; grupa I doświadczalna — 3

szczury nie operowane, otrzymywały sondą codziennie rano przed karmieniem Biseptol w zawiesinie wodnej w dawce 0,27 g/kg masy ciała przez 6 dni. Dawka ta była 10-krotnie większa od największej dziennej dawki leczniczej stosowanej u człowieka; grupa II doświadczalna — 3 szczury po częściowej hepatektomii, według metody Higginsa i Andersona w modyfikacji Staszycy, otrzymywały Biseptol identycznie jak szczury grupy I; podawanie leku rozpoczęto po 2 tygodniach od zabiegu operacyjnego, uwzględniając okres adaptacji zwierzęcia do warunków doświadczalnych; grupa III doświadczalna — 3 szczury po częściowej hepatektomii, według metody jak wyżej, nie otrzymywały Biseptolu.

Zwierzęta były karmione standardową paszą granulowaną i miały pod dostatkiem wody do picia. Zabijano je przez dekapitowanie. Pobierano trzustkę do badań histochemicznych na obecność lipazy według metody Gomoriego, kwasu rybonukleinowego według metody Bracheta i mukopolisacharydów obojętnych według metody PAS oraz do badania morfologicznego hematoksyliną i eozyną (H+E) w celu uwidocznienia budowy histologicznej części zewnątrzwydzielniczej gruczołu. Do przeglądowego barwienia (H+E) trzustkę utrwalano 48 godz. w 4% formolu, odwadniano w alkoholach, prześwietlano w ksylenie i zatapiano w parafinie. Do wykrywania kwasu rybonukleinowego gruczoł utrwalano 1/2 godz. w płynie Carnoya, płukano w alkoholu absolutnym, prześwietlano w ksylenie i zatapiano w parafinie. Do wykrywania obecności lipazy zastosowano utrwalanie w płynie Bakera, a następnie krojono skrawki na mikrotomie mrożeniowym.

Zdjęcia wykonano przy pomocy mikroskopu i aparatu fotograficznego Ergaval firmy Carl Zeiss — Jena.

WYNIKI BADAŃ

Grupa kontrolna. Przeglądowe barwienie H+E uwidacznia histologiczną budowę trzustki. Gruczoł jest zbudowany ze zrazików zbliżonych na przekroju kształtem do trójkątów oddzielonych większymi pasmami tkanki łącznej, w której tkwią międzyzrazikowe naczynia i przewody wyprowadzające sok trzustkowy. Tkanka interstycjalna, ściany naczyń krwionośnych i nabłonek przewodów wyprowadzających wykazują charakter kwasochłonny. Komórki wydzielnicze, widoczne w różnej ilości na przekroju pęcherzyków (od kilku do kilkunastu) są w części przypadkowej silnie zasadochłonne ze względu na obecność szorstkiego retikulum w tym rejonie komórki. Część szczytowa, w której gromadzą się ziarna zymogenu, ma charakter kwasochłonny (ryc. 1). Okrągłe jądra komórkowe z widocznymi ziarnami chromatyny leżą bliżej przypadkowej części komórki, co jest typowe dla komórek aktywnych metabolicznie. Barwienie według metody Bracheta uwidacznia czerwonoróżowe ziarenka kwasu rybonukleinowego zlokalizowanego w częściach przypadkowych komórek (na obwodzie pęcherzyków). Ilość RNA nie jest jednakowa we wszystkich komórkach. Obserwowano różnice w intensywności zabarwienia cytoplazmy komórek w tym samym pęcherzyku jak też różnice między zrazikami (ryc. 3). W jądrach komórkowych wybarwionych zie-

lenią metylową widoczne są grudki chromatyny oraz jąderko, w niektórych komórkach bardzo duże. Delikatny odczyn na mukopolisacharydy obojętne, uwidoczniony metodą PAS, jest obecny w błonach podstawnych komórek nabłonka przewodów wyprowadzających oraz w ścianach naczyń krwionośnych. Stosując metodę Gomoriego na wykrywanie obecności lipazy stwierdzono obecność małej aktywności enzymu w szczytowych częściach komórek tworzących pęcherzyki. Słabo widoczne ziarenka lipazo dodatnie nie są równomiernie rozmieszczone we wszystkich pęcherzykach (ryc. 5). Obserwowano również pewne różnice między płacinkami.

Grupa I doświadczalna. Zastosowane badania nie uwidoczniły ewidentnych różnic między zwierzętami tej grupy a zwierzętami kontrolnymi.

Grupa II doświadczalna. Komórki egzokrynne trzustki barwiły się H+E przy podstawie intensywniej niż komórki zwierząt kontrolnych. Jednakże różnica ta była minimalna (ryc. 2). Ponadto w niektórych komórkach widoczne były powiększone jądra komórkowe, a w wielu jądrach — duże jąderka. Opisane zmiany w komórkach trzustki potwierdzono metodą Bracheta (ryc. 4). Obserwowano również nieduże wzmoczenie aktywności lipazy (ryc. 6). Ziarenka lipazo dodatnie tworzyły większe skupienia w szczytowej części komórek. Natomiast odczyn na mukopolisacharydy obojętne nie wykazywał zmian w porównaniu z kontrolą.

Grupa III doświadczalna. Nie stwierdzono widocznych różnic w porównaniu z kontrolą.

OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ

Biseptol 480 jest sulfonamidem krótko działającym, o dużej aktywności bakteriostatycznej i szerokim spektrum (9). Działa wyłącznie na mikroorganizmy, hamując w nich syntezę kwasu foliowego i puryn — związków niezbędnych do syntezy DNA i RNA. Lek ten nie wpływa na syntezę kwasu foliowego w komórkach człowieka z powodu mniejszej wrażliwości ludzkiej reduktazy kwasu dwuhydrofoliowego na działanie trimetoprimu (3, 5). Biseptol 480 osiąga duży stopień selektywności, co tłumaczy jego doskonałą tolerancję stwierdzaną w klinice. Inną jego zaletą jest bardzo szybkie wchłanianie z przewodu pokarmowego i wysokie stężenie w narządach. Po 1 godz. lek osiąga terapeutyczne stężenie we krwi, po 2—4 godz. jest ono najwyższe i utrzymuje się ok. 12 godz. Stężenie w niektórych narządach, jak nerki i płuca, jest wyższe niż we krwi. Biseptol wydalany jest głównie przez nerki. W ciągu 24 godz. ulega wydalaniu 71,5% trimetoprimu i 58% sulfametoksazolu (2, 6, 7, 13). Nie stwierdzono lekooporności na Biseptol 480, dlatego stosuje się ten lek w przewlekłych

zakażeniach układu moczowego przez *E. coli*, *P. vulgaris* (1, 12, 13). Pomimo dobrej tolerancji leku stwierdzono u pojedynczych chorych niekorzystną reakcję, głównie ze strony przewodu pokarmowego, w postaci mdłości, wymiotów i bólów głowy. Przeciwwskazaniem do stosowania Biseptolu jest uszkodzenie nerek, skaza krwotoczna, podawanie wcześniakom i noworodkom (8), jak też stany pożyłtaczkowe, a więc niewydolność wątroby (11).

Obserwacje dojrzałych 7-miesięcznych szczurów, poddanych działaniu Biseptolu 480 w naszym doświadczeniu, potwierdziły dobrą tolerancję na lek, a badania histologiczne i histochemiczne — brak toksyczności przy zastosowanej dawce. Jedynie podawanie Biseptolu zwierzętom po hepatektomii wywołało minimalne zmiany morfologiczne, objawiające się powiększeniem jąder i jąderek w części komórek zewnątrzwydzielniczych trzustki. Fakt ten wskazuje na zwiększenie aktywności metabolicznej niektórych komórek. Związane jest to z tworzeniem w jądrze większej ilości mRNA oraz rRNA, jako wyraz mobilizacji gruczołu do zwiększonej syntezy enzymów koniecznych w procesie wchłaniania leku w przypadku mniejszej wydolności wątroby po częściowej hepatektomii. Ilość RNA w cytoplazmie komórek egzokrynowych na preparatach barwionych według metody Bracheta, była zwiększona w stosunku do kontroli tylko u zwierząt otrzymujących Biseptol po hepatektomii. Jednakże tak małe różnice, dotyczące stopnia rozwoju błon ER i ilości rybosomalnego RNA w cytoplazmie komórek między zwierzętami kontrolnymi i doświadczalnymi, są trudne do uchwycenia za pomocą obserwacji w mikroskopie świetlnym. Należy jednak w całokształcie doświadczenia uwzględnić zaobserwowany fakt, ponieważ wiadomo, że kwasy nukleinowe reagują bardzo żywo na warunki, w jakich znajduje się komórka trzustki, dając zmiany nie tylko aktywności, ale i położenia.

Lipaza — jeden z enzymów soku trzustkowego, wykazywała większą aktywność w komórkach zwierząt przyjmujących lek po hepatektomii niż u zwierząt kontrolnych. Nie stwierdzono natomiast zwiększenia ilości ziarerek lipazo dodatnich po Biseptolu 480 w przypadku zwierząt niehepatektomizowanych, jak też w przypadku zwierząt z usuniętym płatem wątroby nie otrzymujących Biseptolu. Można przypuszczać więc, że Biseptol wywiera działanie mobilizujące syntezę enzymów w przypadku mniejszej sprawności wątroby.

Badania mukopolisacharydów obojętnych nie wykazały żadnych różnic w ilości i występowaniu tych związków między grupą kontrolną a grupami doświadczalnymi.

Sam zabieg usunięcia płata wątroby zwierzęta zniosły dobrze i nie wpłynął on na zachwianie fizjologicznej równowagi przewodu pokarmowego. Potwierdziły to obserwacje komórek trzustki u zwierząt grupy III

doświadczalnej. Również Biseptol 480 (grupa I doświadczalna) nie powodował żadnych zmian ani w strukturze komórek, ani w aktywności lipazy oraz ilości RNA w stosunku do zwierząt kontrolnych. Nasze wyniki potwierdziły dane innych autorów o braku toksycznego wpływu leku na organizm zwierząt dojrzałych. Brauner G. i wsp. (4) nie stwierdzili ubocznego działania na nerki, mimo że Biseptol osiąga w układzie moczowym wyższe stężenie niż we krwi i innych narządach oraz jest przez ten układ wydalany.

Obserwacje egzokrynnych komórek trzustki szczurów poddanych działaniu Bencyliny-1 (pochodnej penicylin syntetycznych) również nie wykazały zmian morfologicznych i histochemicznych. Jedynie w przypadku zastosowania dużej dawki leku (w zatruciu podoстрыm) obserwowano nieduże zwiększenie aktywności dehydrogenazy bursztynianowej i lipazy (10).

Pomimo uszkodzenia wątroby, przytoczone dane wskazują na dużą odporność komórek gruczołowych trzustki na związki antymetaboliczne.

PISMIENICTWO

1. Bauer K. M.: Erfahrungen mit einem neuen Chemotherapeutikum bei Harnwegsinfektionen. *Chemotherapy, Suppl.* **14**, 38, 1969.
2. Bloedner C. D.: Die Behandlung akuter Schübe der chronisch rezidivierenden Bronchitis mit Gantanol-Trimethoprim, *Chemotherapy, Suppl.* **14**, 43, 1969.
3. Böhni E.: Vergleichende bakteriologische Untersuchungen mit der Kombination Trimethoprim/Sulfametoksazol *in vitro* und *in vivo*. *Chemotherapy, Suppl.* **14**, 65, 1969.
4. Brauner C. i wsp.: Działanie septyryny w zakażeniach narządu moczowego. *Pol. Tyg. Lek.* **39** (3), 1512, 1971.
5. Burchall J. J., Hitchings G. H.: Inhibitor Binding Analysis of Dihydrofolate Reductases from Various Species. *Mol. Pharm.* **1**, 125, 1965.
6. Drew C. D. M. i wsp.: Long-term Treatment of Chest Infections with a Combination of Trimethoprim and Sulphonamide. The Clinical, Bacteriological and Haematological Effects. [w:] 5th International Congress of Chemotherapy, Proceedings Antibact. Chemoth., K. H. Spitz, H. Haschek, Wiedeń 1967.
7. Grüneberg R. N., Kolbe R.: Trimethoprim in the Treatment of Urinary Infections in Hospital. *Brit. Med. J.* **1**, 545, 1969.
8. Haliniarz W., Sikorski R.: Study of the Embryotoxicity of the Preparation Biseptol — Polfa in Pregnant Hamsters. *Gin. Pol.* **50** (6), 481, 1979.
9. Jeljaszewicz J.: Sulfonamidy i ich znaczenie. [w:] Materiały z konferencji z 20 III 1976 r. PZWL, Warszawa 1978.
10. Królikowska-Prasał I. i wsp.: Badania histochemiczne nad mechaniką działania nowego antybiotyku Bencyliny-1 na wątrobę i trzustkę zwierząt doświadczalnych. *Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Lublin, Sectio D* **34**, 239, 1979.

11. Krzyżanowska-Rogozińska T., Szeliga J.: Działanie Bactrimu w zakażeniach układu moczowego u dzieci. *Probl. Lek.* 11 (2), 419, 1972.
12. Sourander L. B., Werner G. E.: Efficacy and Tolerance of Sulphonamide-trimethoprim Combinations in Geriatric Patients with Bacteriuria. [w:] 5th International Congress of Chemotherapy. Proceedings Antibact. Chemoth., K. H. Spitz, J. Haschek, Wiedeń 1967.
13. Wright D. J. M., Grimble A.: Trimethoprim Mixture. *Brit. Med. J.* 1, 637, 1969.

Otrzymano 30 IX 1982.

OBJAŚNIENIA RYCIN

Ryc. 1. Trzustka szczura z grupy kontrolnej. Barwienie hematoksyliną i eozy-ną. Pow. ok. 400X.

Ryc. 2. Trzustka szczura z grupy II doświadczalnej. Zwiększenie ilości rybo-somów w częściach przypodstawnych komórek. Barwienie hematoksyliną i eozy-ną. Pow. ok. 400X.

Ryc. 3. Trzustka szczura z grupy kontrolnej. Barwienie według metody Brache-ta. Pow. ok. 400X

Ryc. 4. Trzustka szczura z grupy II doświadczalnej. Zwiększenie ilości RNA w częściach przypodstawnych komórek. Barwienie wg metody Bracheta. Pow. ok. 400X.

Ryc. 5. Trzustka szczura z grupy kontrolnej. Lipaza. Metoda Gomoriego. Pow. ok. 400X.

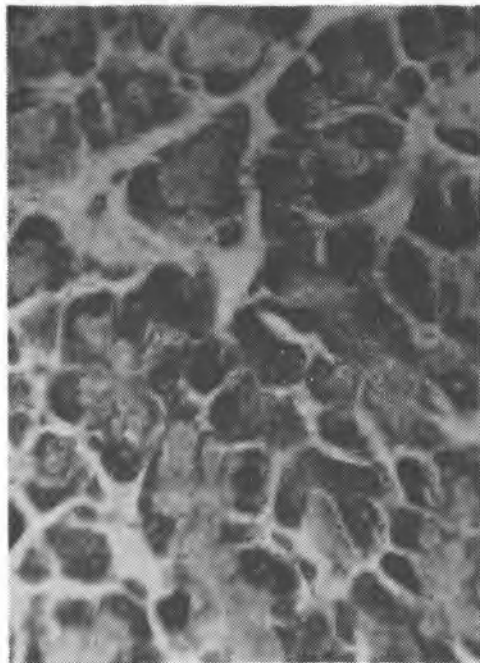
Ryc. 6. Trzustka szczura z grupy II doświadczalnej. Zwiększenie aktywności lipazy. Metoda Gomoriego. Pow. ok. 400X.

Р Е З Ю М Е

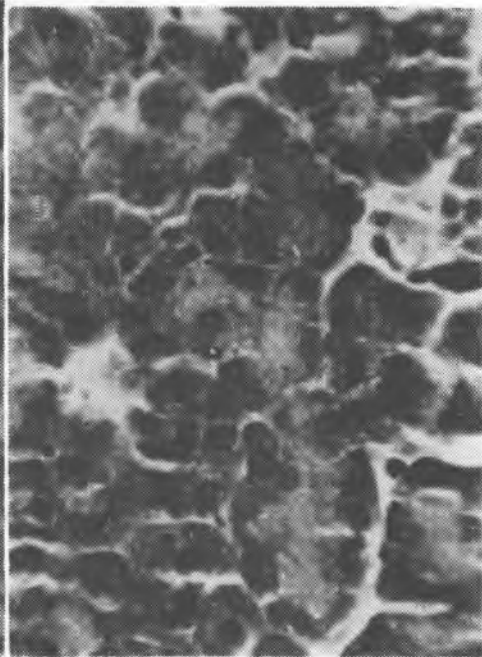
Исследовано влияние Бисептола 480 на внесекреторные клетки поджелудоч-ной железы крыс самцов. Некоторым животным удалено долю печени. У жи-вотных с удаленной долей печени Бисептол 480 вызывал небольшое увеличение ядер и ядрышек в немногих клетках пузырьков поджелудочной железы. Заме-чено также небольшое повышение активности липазы и количества RNA.

S U M M A R Y

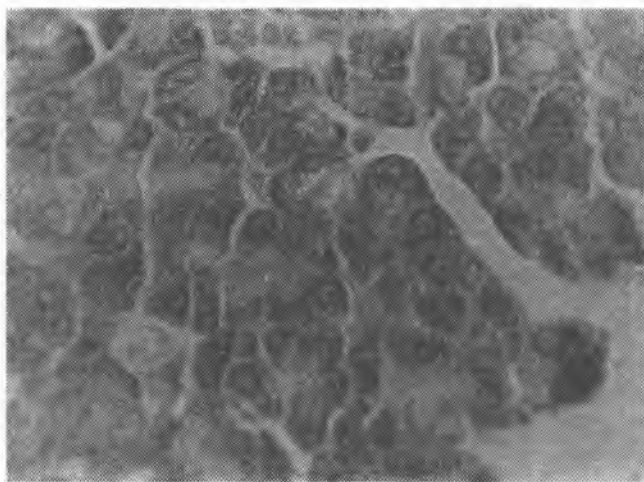
The influence of Biseptol 480 on the exocrine cells of male rat's pancreas was investigated. The hepatic lobe was excised from part of animals. The drug caused minor changes, namely the magnification of nuclei and nucleoli in very few cells of pancreatic vesicles in the animals with the excised hepatic lobe. Simultaneously, a slight increase of lipase activity and RNA quantity was observed.



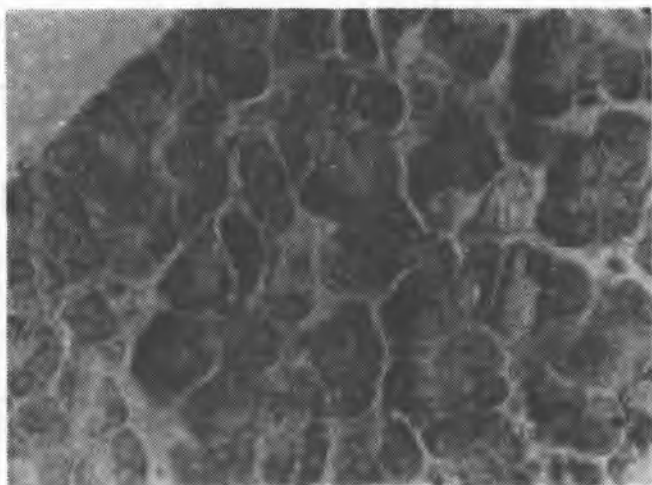
Ryc. 1



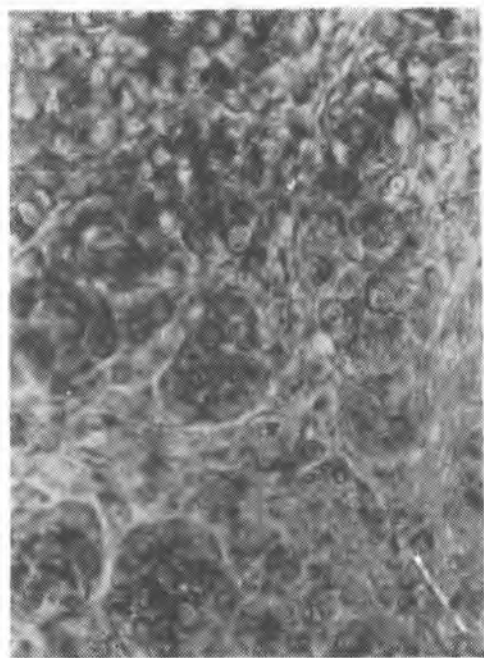
Ryc. 2



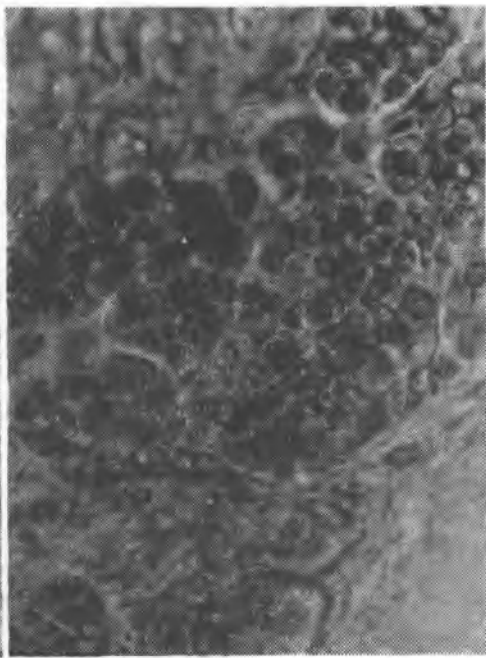
Ryc. 3



Ryc. 4



Ryc. 5



Ryc. 6

EXPLANATION TO FIGURES

Fig. 1. The pancreas of a control rat. Colouring with hematoxylin and eosin. Magn. ca 400X.

Fig. 2. The pancreas of a rat from experimental group II. An increase of ribosome quantity in the basal parts of cells. Colouring with hematoxylin and eosin. Magn. ca 400X.

Fig. 3. The pancreas of a control rat. Reaction according to Brachet's method. Magn. ca 400X.

Fig. 4. The pancreas of a rat from experimental group II. An increase of RNA quantity in the basal parts of cells. Reaction according to Brachet's method. Magn. ca 400X.

Fig. 5. The pancreas of a control rat. Reaction to lipase according to Gomori's method. Magn. ca 400X.

Fig. 6. The pancreas of a rat from experimental group II. An increase of lipase activity. Reaction to lipase according to Gomori's method. Magn. ca 400X.

