

ANNALES  
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA  
LUBLIN—POLONIA

VOL. XXXV, 34

SECTIO D

1980

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

Barbara CISZEWSKA-POPIOŁEK,  
Grażyna WYSOCKA

**Wpływ leków psychotropowych podawanych w okresie ciąży na odczyny histochemiczne w wątrobie płodowej**

Влияние психотропных средств применяемых в период беременности на гистохимические реакции в эмбриональной печени

An Effect of Psychotropic Drugs Administered during Gestation on Histochemical Reaction in the Embryo Liver

Nadużywanie środków uspokajających i przeciwdepresyjnych jest szczególnie niebezpieczne w okresie ciąży. Leki zażywane przez kobiety ciężarne mogą wywierać negatywne działanie na rozwój płodu. Szkodliwość działania leku dla płodu zależy od wielu czynników (1), między innymi od: wielkości dawki i długości czasu podawania leku, szybkości i stopnia, w jakim lek przechodzi przez łożysko oraz wrażliwości płodu na szkodliwe działanie leku. Wrażliwość ta nie jest jednakowa w różnych okresach jego rozwoju, największą stwierdzono w okresie różnicowania się komórek.

Sinequan — chlorowodorek doksepiny to lek psychotropowy o szerokim zakresie działania. Jest dobrze znoszony przez pacjentów i powoduje tylko czasami niewielkie objawy uboczne (4, 9). Metabolizowany bardzo szybko (3), jest lekiem bezpiecznym, lecz podawanie go w okresie ciąży może być dopuszczalne tylko w przypadku wyraźnej konieczności (12).

W naszych badaniach podjęto próbę wyjaśnienia wpływu tego leku na zachowanie się aktywności niektórych enzymów hydrolitycznych w rozwijającej się wątrobie płodowej.

**MATERIAŁ I METODYKA BADAN**

Badania przeprowadzono na 14 samicach ciężarnych szczurów białych, od których pobrano 70 zarodków. Samice z hodowli własnej Zakładu, w wieku ok. 3 miesięcy, przebywały przez cały okres doświadczenia w tych samych warunkach i na tej samej diecie. Podzielono je na 3 grupy:

Grupę kontrolną — 4 samice (20 zarodków).

Grupę I doświadczalną — 5 samic (25 zarodków), które otrzymywały Sinequan (firmy Pfizer) doustnie, począwszy od 2 dnia ciąży codziennie w dawce dziennej 0,053 mg, to jest 0,31 mg/kg c.c.

Grupę II doświadczalną — 5 samic (25 zarodków), które otrzymywały lek doustnie od 2 dnia ciąży codziennie w dawce dziennej 0,75 mg, to jest 4,41 mg/kg c.c.

Materiał do badań pobierano we wszystkich grupach w 21 dniu ciąży. Szczury dekapitowano, wypreparowywano z nich płody i pobierano wycinki wątroby płodowej. Materiał do badań enzymatycznych utrwalano w zimnym płynie Bakera w temp. 4°C przez 24 godz. i krojono na mikrotomie mrozeniowym na skrawki grubości 8—10 µm.

Przeprowadzono reakcje histochemiczne na aktywność: adenozynotrójfosfatazy wg metody Wachsteina i Meisel, fosfataz zasadowej i kwaśnej wg metody Gomoriego oraz glukozo-6-fosfatazy wg metody Wachsteina i Meisel.

## BADANIA WŁASNE

### Grupa kontrolna

W elementach krwiotwórczych wątroby zaobserwowano intensywny odczyn na adenozynotrójfosfatazę, fosfatazę zasadową, fosfatazę kwaśną oraz glukozo-6-fosfatazę. Największą aktywność adenozynotrójfosfatazy wykazywały komórki krwiotwórcze skupiające się wokół żył centralnych (ryc. 1). W hepatoblastach odczyn na adenozynotrójfosfatazę, fosfatazę zasadową i kwaśną był słabszy niż w komórkach krwiotwórczych i niejednakowo nasilony we wszystkich komórkach (ryc. 2 i 3). Odczyn na glukozo-6-fosfatazę w komórkach wątrobowych miał charakter dyfuzyjny (ryc. 4). W śródbłonkach naczyń zatokowych reakcja na adenozynotrójfosfatazę była duża.

### Grupa I doświadczalna

Komórki krwiotwórcze skupione wokół żył centralnych wykazywały nadal dużą aktywność adenozynotrójfosfatazy. Zmniejszyła się natomiast aktywność enzymu w komórkach krwiotwórczych rozrzuconych pomiędzy hepatoblastami. W hepatoblastach nasilenie aktywności adenozynotrójfosfatazy było bardziej jednolite niż w grupie kontrolnej. Enzymo-dodatnie ziarenka w cytoplazmie rozrzucone były równomiernie. Śródbłonki naczyń zatokowych nadal wykazywały dużą aktywność tego enzymu (ryc. 5). Intensywność odczynu na fosfatazę zasadową w elementach krwiotwórczych nie zmieniła się w porównaniu z kontrolą. Zaobserwowano natomiast zmniejszenie liczby komórek wątrobowych z silną

reakcją na fosfatazę zasadową. Część hepatoblastów wykazywała słabą reakcję na fosfatazę zasadową lub jej brak (ryc. 6). Aktywność fosfatazy kwaśnej w elementach krwiotwórczych oraz hepatoblastach była podobna jak w grupie kontrolnej. Odczyn na glukozo-6-fosfatazę w hepatoblastach zmienił swój charakter z dyfuzyjnego na ziarnisty. W elementach krwiotwórczych i śródbłónkach naczyniowych odczyn na glukozo-6-fosfatazę przypominał materiał porównawczy.

### Grupa II doświadczalna

Znacznie zmniejszyło się nasilenie reakcji na adenzynotrójfosfatazę w hepatoblastach. Zmieniło się również rozmieszczenie enzymododatnich ziarenek w tych komórkach. W cytoplazmie obserwowano tylko pojedyncze ziarenka, większość enzymododatnich elementów skupiała się natomiast w pobliżu błon komórkowych, szczególnie wzdłuż przebiegu kanalików żółciowych. W komórkach krwiotwórczych także zaobserwowano spadek aktywności adenzynotrójfosfatazy, tylko w komórkach skupionych wokół żył centralnych pozostawała ona nadal wysoka. Odczyn na fosfatazę zasadową wykazywał dużą aktywność w komórkach krwiotwórczych, lecz zmniejszył się w hepatoblastach w porównaniu z kontrolą. Podobnie jak w poprzedniej grupie obserwowano skupienia komórek, w których aktywność enzymu była mała lub fosfatazoujemna. W porównaniu z kontrolą zauważono znaczny spadek aktywności fosfatazy kwaśnej w hepatoblastach. Była ona również mniejsza niż w grupie I doświadczalnej. W komórkach krwiotwórczych aktywność fosfatazy kwaśnej nie zmieniła się (ryc. 7). Zwiększyła się natomiast aktywność glukozo-6-fosfatazy, zarówno w hepatoblastach, jak i komórkach krwiotwórczych (ryc. 8).

### OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ

Szkodliwość działania leku na płód zależy między innymi od mechanizmu jego transportu przez łożysko (8). Leki mogą przenikać przez łożysko w formie nie zmienionej, mogą być rozłożone lub ulec przemianom chemicznym. Wytworzone metabolity są najczęściej mniej aktywne od stosowanych leków, niekiedy jednak, jak np. w przypadku amfetaminy, produkty jej metabolizmu są bardziej toksyczne niż lek podany matce (1). Łožysko cechuje duży stopień przepuszczalności dla leków psychotropowych, np. stężenie imipraminy we krwi płodu jest dwukrotnie większe niż we krwi matki (2), co z pewnością wpływa niekorzystnie na tkanki płodu.

Nasze badania wykazały, że podawanie Sinequanu w okresie ciąży nie spowodowało zmian strukturalnych w wątrobie płodowej. Metodami histochemicznymi wykryto w grupie kontrolnej większą aktywność adenozynotrójfosfatazy, fosfatazy zasadowej i fosfatazy kwaśnej w komórkach krwiotwórczych niż w hepatoblastach. Odczyn na glukozo-6-fosfatazę w komórkach krwiotwórczych był mniej intensywny, a w hepatoblastach miał charakter dyfuzyjny. Dużą aktywność fosfatazy zasadowej w komórkach krwiotwórczych oraz wiele fosfatazododatnich hepatoblastów opisywali między innymi Zawistowski i wsp. (11), wiążąc ten fakt z aktywnym udziałem tej fosfatazy w procesie różnicowania się komórek wątrobowych oraz w procesie krwiotwórczym. Adenozynotrójfosfataza bierze udział w reakcjach wykorzystania energii zmagazynowanej w ATP. Związana jest, podobnie jak i fosfataza zasadowa, z procesami aktywnego transportu przez błony komórkowe, o czym świadczą obserwowane przez nas większe skupienia fosfatazododatnich ziarenek w pobliżu błon komórkowych.

W naszych badaniach po podaniu Sinequanu zaobserwowano spadek aktywności fosfatazy zasadowej w hepatoblastach w grupach doświadczalnych I i II. Aktywność adenozynotrójfosfatazy zmniejszyła się w komórkach krwiotwórczych w grupie I doświadczalnej, a w grupie II doświadczalnej także w hepatoblastach. Zmiany te świadczą o zaburzeniach energetycznych oraz w transporcie aktywnym. Znaczny spadek aktywności fosfatazy kwaśnej zaobserwowano w hepatoblastach w grupie II doświadczalnej po podaniu większych dawek leku. Jest to enzym związany z układem lizosomalnym komórki, wrażliwy na działanie czynników patologicznych. Zmienił się charakter odczynu na glukozo-6-fosfatazę, enzymu związanego z gładką siatką śródplazmatyczną w grupie I doświadczalnej, a w grupie II doświadczalnej zwiększyła się jej aktywność, zarówno w komórkach krwiotwórczych, jak i w hepatoblastach. Zaobserwowane przez nas zmiany w aktywności badanych enzymów po podaniu Sinequanu w okresie ciąży, zwłaszcza po większych dawkach leku, świadczą o zaburzeniach metabolizmu rozwijających się komórek wątrobowych oraz krwiotwórczych.

Nadużywanie leków psychotropowych często prowadzi do zatruc. Mogą one powodować znaczne zaburzenia w aktywności układów enzymatycznych wątroby dojrzalej. Wiąże się to z jej funkcją metabolizowania leków. Stwierdzono na przykład, że w śmiertelnych zatruciach Tofranilem stężenie leku w wątrobie jest 60 razy większe niż we krwi. Inaczej jednak reaguje na czynniki toksyczne wątroba płodowa. Związane to jest z różnicowaniem się niektórych struktur w obrębie płodowych komórek. Siatki śródplazmatyczne gładka i szorstka są zaangażowane w procesy metabolizowania leków, a końcowy etap życia płodowego jest dopiero

okresem różnicowania się siatki gładkiej (5, 6, 7). Należy również pamiętać, że wątroba płodowa jest częścią integralnego zespołu funkcjonalnego „płód-łożysko”, wzajemnie uzależnionego i uzupełniającego się (10). Tak więc wszelkie czynniki wpływające na metabolizm bariery łożyskowej wywierają także wpływ na metabolizm tkanek płodowych.

### Wnioski

1. Podawanie Sinequanu w dawce 0,31 mg/kg c.c. samicom ciężarnym spowodowało zmniejszenie aktywności fosfatazy zasadowej w hepatoblastach oraz zmianę charakteru reakcji na glukozo-6-fosfatazę. Zmniejszyła się aktywność adenozynotrójfosfatazy w niektórych komórkach krwiotwórczych.

2. Podawanie Sinequanu w dawce 4,41 mg/kg c.c. spowodowało zmniejszenie aktywności adenozynotrójfosfatazy, fosfatazy zasadowej i kwaśnej oraz zwiększenie aktywności glukozo-6-fosfatazy w hepatoblastach. W komórkach krwiotwórczych zmniejszyła się aktywność adenozynotrójfosfatazy, a zwiększyła aktywność glukozo-6-fosfatazy.

3. Zmiany w aktywności badanych enzymów przemawiają za zaburzeniami w metabolizmie rozwijającej się wątroby płodu.

### PIŚMIENNICTWO

1. Abucewicz A., Abucewicz M., Szyszka K.: Pol. Tyg. Lek. 26, 1174—1176, 1971.
2. Danysz A., Gryglewski R.: Farmakologia. PZWL, Warszawa 1977.
3. Hobbs D. C.: Biochem. Pharm. 18, 1941—1954, 1969.
4. Kędrowa S.: Wiad. Lek. 25, 1595—1598, 1972.
5. Laskes A., Siekevitz P., Palade G. E.: J. Cell. Biol. 49, 264—287, 1971.
6. Maryniak R.: Folia Morph. 38, 259—275, 1979.
7. Maryniak R., Dydyk L.: Pat. Pol. 28, 125—130, 1977.
8. Mazur H., Piekacz H.: Farm. Pol. 4, 273—280, 1970.
9. Piwowarska W.: Pol. Tyg. Lek. 26, 1747—1748, 1971.
10. Szukalski B.: Endokr. Pol. 27, 521—528, 1976.
11. Zawistowski S., Kędzia H., Zawistowska H.: Folia Morph. 24, 263—271, 1965.
12. Żydowicz Z., Duszyk L., Sobiszewski J.: Lekarz Wojsk. 49, 386—392, 1973.

Otrzymano 12 XII 1979.

### OBJAŚNIENIA RYCN

Ryc. 1. Reakcja na adenozynotrójfosfatazę w wątrobie płodowej z grupy kontrolnej. Mikroskop Lumipan C. Zeiss — Jena. Pow. ok. 160×.

Ryc. 2. Reakcja na fosfatazę zasadową w wątrobie płodowej z grupy kontrolnej. Mikroskop Lumipan C. Zeiss — Jena. Pow. ok. 160×.

Ryc. 3. Reakcja na fosfatazę kwaśną w wątrobie płodowej z grupy kontrolnej. Mikroskop Lumipan C. Zeiss — Jena. Pow. ok. 160×.

Ryc. 4. Reakcja na glukozo-6-fosfatazę w wątrobie płodowej z grupy kontrolnej. Mikroskop Lumipan C. Zeiss — Jena. Pow. ok. 160×.

Ryc. 5. Reakcja na adenzynotrójfosfatazę w wątrobie płodowej z grupy I doświadczalnej. Mikroskop Lumipan C. Zeiss — Jena. Pow. ok. 160×.

Ryc. 6. Reakcja na fosfatazę zasadową w wątrobie płodowej z grupy I doświadczalnej. Mikroskop Lumipan C. Zeiss — Jena. Pow. ok. 160×.

Ryc. 7. Reakcja na fosfatazę kwaśną w wątrobie płodowej z grupy II doświadczalnej. Mikroskop Lumipan C. Zeiss — Jena. Pow. ok. 160×.

Ryc. 8. Reakcja na glukozo-6-fosfatazę w wątrobie płodowej z grupy II doświadczalnej. Mikroskop Lumipan C. Zeiss — Jena. Pow. ok. 160×.

### РЕЗЮМЕ

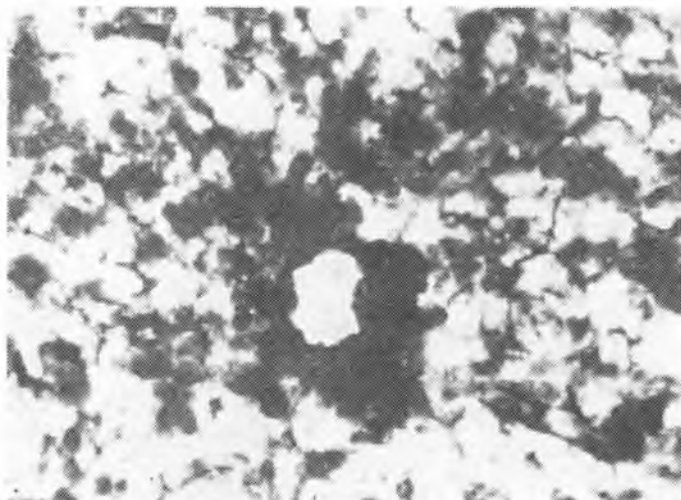
Исследовано активность аденозинтрифосфатазы, щелочной фосфатазы, кислой фосфатазы и глюкозо-6-фосфатазы в эмбриональной печени белой опытной и контрольной крысы. Первая опытная группа животных (I), начиная с 2 дня беременности, получала Sinequan (Pfizer) ежедневно в дозе 0,31 мг/кг в.т., а вторая опытная группа (II) — 4,41 мг/кг в.т.

Замечено изменения в активности исследованных энзимов в гепатобластах и в кроветворных клетках печени опытных животных, сравнивая их с контрольной группой. У животных первой опытной группы понизилась активность щелочной фосфатазы в гепатобластах и аденозинтрифосфатазы в кроветворных клетках. У животных второй опытной группы понизилась активность аденозинтрифосфатазы, щелочной фосфатазы, кислой фосфатазы и повысилась глюкозо-6-фосфатаза в гепатобластах. В кроветворных клетках замечено понижение активности аденозинтрифосфатазы и повышение активности глюкозо-6-фосфатазы. Эти изменения свидетельствуют о метаболическом расстройстве развивающейся эмбриональной печени.

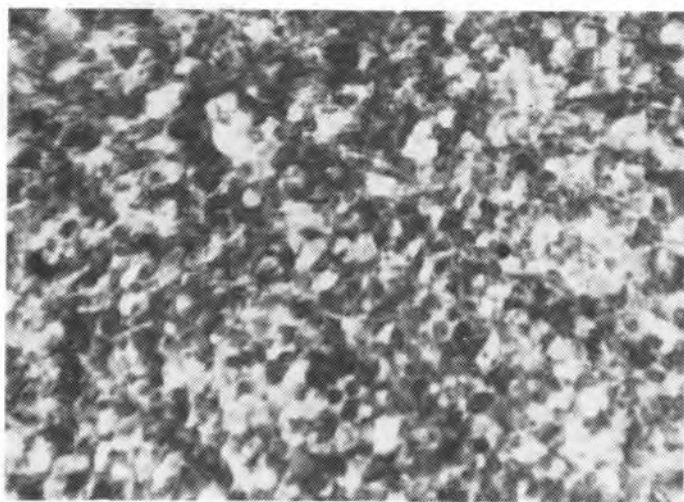
### SUMMARY

The activities of adenosine-3-phosphatase, alkaline phosphatase, acid phosphatase and glucose-6-phosphatase were examined in the embryo liver of white experimental and control rats. Experimental female rats, group I, were given Sinequan (Pfizer) every day in a dose of 0.31 mg/kg of body weight, starting with the second day of gestation. In group II, the rats were given Sinequan in a dose of 4.41 mg/kg of body weight.

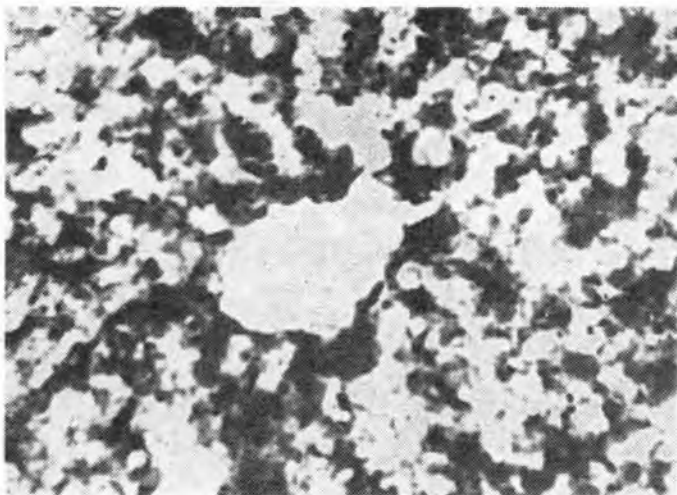
The observations were made of the variations in the activity of the examined enzymes in the hepatoblasts and hematopoietic liver cells in comparison with the respective values in control group. In experimental group I, the activity of alkaline phosphatase and that of adenosine-3-phosphatase decreased in the hepatoblasts and in the hematopoietic liver cells, respectively. In experimental group II, the observations showed a decreased activity of adenosine-3-phosphatase, alkaline phosphatase and acid phosphatase, and an increased activity of glucose-6-phosphatase in the hepatoblasts. In the hematopoietic liver cells, the activity of adenosine-3-



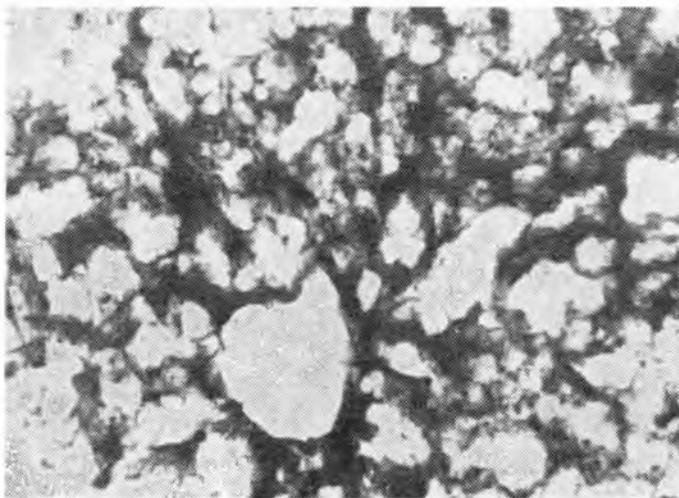
Ryc. 1



Ryc. 2

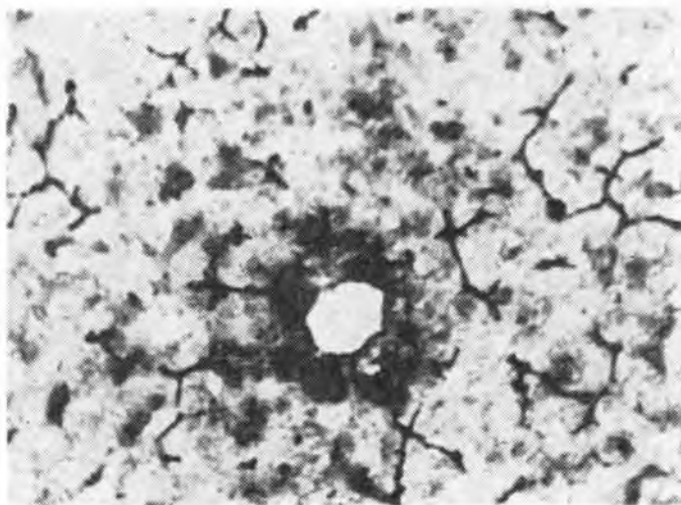


Ryc. 3

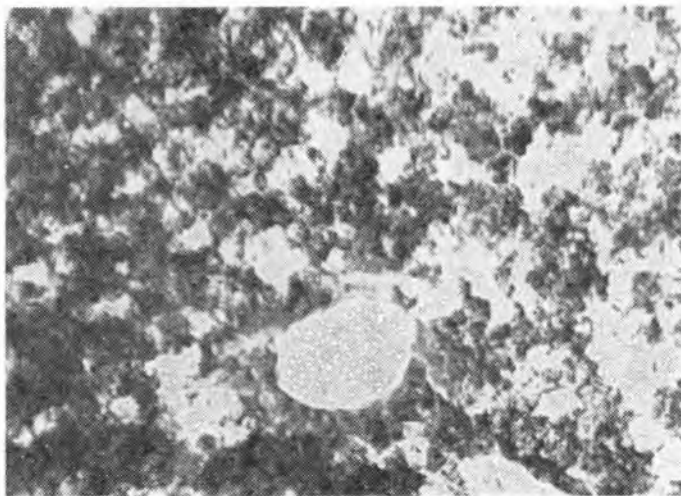


Ryc. 4

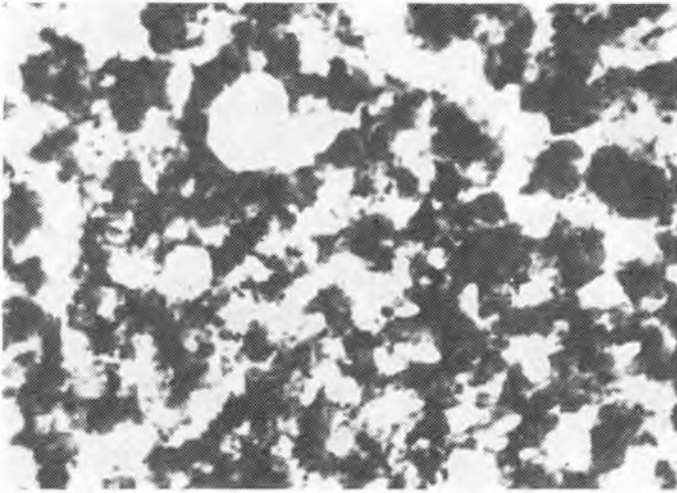




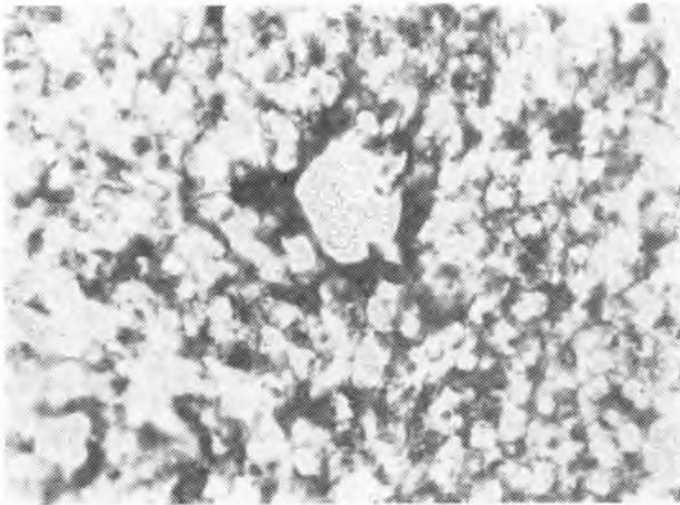
Ryc. 5



Ryc. 6



Ryc. 7



Ryc. 8

phosphatase decreased and that of glucose-6-phosphatase increased. The variations suggest some disturbance in the metabolism of the embryo liver during gestation period.

#### EXPLANATION TO FIGURES

Fig. 1. Reaction to adenosine-3-phosphatase in the embryo liver. Control group. Microscope Lumipan C. Zeiss — Jena. Magn. ca. 160X.

Fig. 2. Reaction to alkaline phosphatase in the embryo liver. Control group. Microscope Lumipan C. Zeiss — Jena. Magn. ca. 160X.

Fig. 3. Reaction to acid phosphatase in the embryo liver. Control group. Microscope Lumipan C. Zeiss — Jena. Magn. ca. 160X.

Fig. 4. Reaction to glucose-6-phosphatase in the embryo liver. Control group. Microscope Lumipan C. Zeiss — Jena. Magn. ca. 160X.

Fig. 5. Reaction to adenosine-3-phosphatase in the embryo liver. Experimental group I. Microscope Lumipan C. Zeiss — Jena. Magn. ca. 160X.

Fig. 6. Reaction to alkaline phosphatase in the embryo liver. Experimental group I. Microscope Lumipan C. Zeiss — Jena. Magn. ca. 160X.

Fig. 7. Reaction to acid phosphatase in the embryo liver. Experimental group II. Microscope Lumipan C. Zeiss — Jena. Magn. ca. 160X.

Fig. 8. Reaction to glucose-6-phosphatase in the embryo liver. Experimental group II. Microscope Lumipan C. Zeiss — Jena. Magn. ca. 160X.

