

Zakład Histologii i Embriologii. Instytut Biologiczno-Morfologiczny.  
Akademia Medyczna w Lublinie

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Stanisław Grzycki

Krystyna CZERNY, Józef STASZYC, Ewa KIFER  
Anna TOMASZEWSKA

### **Wpływ Astmopentu na odczyny histochemiczne w wątrobie**

Влияние Астмопента на гистохимические реакции в печени

Effect of Astmopent on the Histochemical Reactions in the Liver

Lek przeciwastmatyczny o działaniu sympatykomimetycznym — siarczan 1-(3,5-dwuhydroksyfenylo)-2-izopropylaminoetanolu, występuje między innymi w postaci preparatu doustnego Astmopent produkcji Zakładów Farmaceutycznych „Polfa”. Korzystny wpływ Astmopentu w wielu jednostkach chorobowych (1, 4, 7), przy równoczesnym niepełnym poznaniu skutków ubocznych, jakie może on wywierać, jest przyczyną podjęcia badań laboratoryjnych nad działaniem tego leku. W obecnej pracy zastosowano odczyny histochemiczne w celu obserwacji ewentualnych zmian zachodzących w wątrobie, narządzie związanym z ważnymi ogniwami metabolizmu Astmopentu (6).

#### MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Doświadczenie przeprowadzono na 70 królikach obu płci o c.c. 1,5—2,5 kg oraz na 70 szczurach Wistar samcach o c.c. 160—200 g. Zwierzęta użyte w obecnej pracy były również wykorzystane do badań biochemicznych i farmakologicznych. Dawkowanie leku opracowano i lek podawano w Zakładzie Instytutu Patologii Klinicznej Akademii Medycznej w Lublinie. Astmopent podawano w roztworach wodnych królikom dootrzewnowo i dożylnie, szczurom — dootrzewnowo i dożołądkowo, raz na dobę, przez 43 dni, z wyjątkiem niedziel. W zależności od drogi podawania leku, króliki i szczury podzielono na grupy:

Grupa I — króliki, które otrzymywały lek dootrzewnowo:

seria A — 1 mg/kg c.c. — 5 zwierząt,

seria B — 3 mg/kg c.c. — 5 zwierząt.

Grupa II — króliki, które otrzymywały lek dożylnie:

seria A — 0,5 mg/kg c.c. — 5 zwierząt,

seria B — 1,5 mg/kg c.c. — 5 zwierząt.

Grupa III — szczury, które otrzymywały lek dożylnie:

seria A — 1 mg/kg c.c. — 5 zwierząt,

seria B — 15 mg/kg c.c. — 5 zwierząt.

Grupa IV — szczury, które otrzymywały lek dożoładkowo:

seria A — 4 mg/kg c.c. — 5 zwierząt,

seria B — 200 mg/kg c.c. — 5 zwierząt.

Badano również grupy kontrolne (každorazowo po 5 zwierząt), otrzymujące sam rozpuszczalnik leku. Na skrawkach wątroby wykonano barwienie hematoksyliną Mayera i wodnym roztworem eozyiny, reakcję na tłuszcze (sudan czarny wg Romeisa) oraz histochemiczne metody wykrywania aktywności enzymów: fosfatazy kwasnej, ATP-azy, glukozy-6-fosfatazy i lipazy (5, 8, 11).

## WYNIKI BADAŃ WŁASNYCH

### Grupa I

Struktura wątroby nie wykazywała zmian histomorfologicznych. Po obu dawkach leku sudanofilność w komórkach wątrobowych była mniejsza od występującej w warunkach normalnych (ryc. 1). Nie stwierdzono zmian odczynów na aktywność ATP-azy, glukozy-6-fosfatazy i fosfatazy kwasnej (ryc. 2). Wzrosła w porównaniu z kontrolą aktywność lipazy w komórkach gwiaździstych. Dotyczyło to serii A i B (ryc. 3).

### Grupa II

U wszystkich zwierząt doświadczalnych wystąpił wzrost ilości ciemnych komórek wątrobowych, zwłaszcza w otoczeniu naczyń krwionośnych (ryc. 4). W porównaniu z kontrolą nie zauważono zmian na preparatach barwionych sudanem (ryc. 5). Również aktywność ATP-azy, glukozy-6-fosfatazy i fosfatazy kwasnej nie różniła się od występującej w warunkach normalnych. W reakcji na aktywność lipazy, ok. 50% preparatów histochemicznych wykazywało wzrost intensywności odczynu. Zjawisko to stwierdzono po obu stosowanych dawkach Astmopentu (ryc. 6).

### Grupa III

W tkance wątrobowej zwierząt obu serii doświadczalnych występowała duża ilość hepatocytów ciemnych, przy równoczesnym znacznym przekrwieniu narządu. Sudanofilność hepatocytów i komórek gwiaździstych nie różniła się od występującej w warunkach kontrolnych (ryc. 7). W obu

seriach doświadczalnych aktywność hydrolaz nie wykazywała istotnych zmian (ryc. 8 i 9).

#### Grupa IV

W obu seriach doświadczalnych wystąpiła zwiększona granularna gęstość hepatocytów. Zauważono zmienność zabarwienia poszczególnych zrazików wątrobowych, szerokie naczynia krwionośne i przestrzenie międzybeleczkowe (ryc. 10 i 11). Nie obserwowano zmian w sudanofilności tkanki wątrobowej. Badane odczyny na aktywność enzymów hydrolitycznych zachowywały się analogicznie do obserwowanych w poprzedniej grupie. Wystąpiło niewielkie zmniejszenie intensywności odczynu na lipazę w hepatocytach (ryc. 12).

#### OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ I WNIOSKI

Międzynarodowa nazwa badanego w obecnej pracy leku, wg International Nonproprietary Names z r. 1971, brzmi Orciprenaline Sulfate (9). Astmopent „Polfa” jest jego preparatem prostym. Farmakologiczne działanie leku polega na wybiórczym pobudzeniu receptorów  $\beta_2$ . Zachodzi hydroliza ATP i powstaje cykliczny 3'5'AMP, ważny czynnik w przemianie węglowodanowej i tłuszczowej (2, 7). Po zastosowaniu Astmopentu występuje szybkie działanie rozkurczowe, słabsze i dłużej trwające w porównaniu z wpływem Izoprenaliny. Podany doustnie lek wywołuje długo utrzymujące się działanie lecznicze. Ciśnienie krwi obniża się nieznacznie, rzadko występują zaburzenia rytmu serca. Stosowany jest w leczeniu bloku przedsionkowo-komorowego, w rzadkoskurczu, zatruciu naparstnicą (4). Używany jest w leczeniu dychawicy oskrzelowej, zapaleniu oskrzeli ze stanami spastycznymi, stosowany jest w pediatrii ze względu na wyżej wymienione właściwości (1). Wyniki obecnej pracy doświadczalnej potwierdzają małą toksyczność leku: w żadnej z badanych grup zwierząt nie obserwowano istotnych zmian w obrazie miększu wątrobowego. Nie wykazywały odchyień od normy stosowane wyznaczniki histochemiczne, jak odczyn na aktywność fosfatazy kwaśnej, ATP-azy, glukozo-6-fosfatazy. Wahania intensywności odczynu na lipazę nie są istotne. Jest to metoda histochemiczna dość kapryśna i wyniki jej nie zawsze są zgodne z istotnym stanem komórki (8). Obserwowane zmiany odczynu na aktywność lipazy wiążą się raczej z gatunkiem używanych zwierząt (szczur — królik), a nie z drogą podawania i wielkością stosowanej dawki. Na zaburzenia czynności wątroby pod wpływem podawanego leku wskazują raczej zmiany morfologiczne po barwieniu hematoksyliną i eozyną, co

obserwuje się zwłaszcza u szczurów, którym podawano Astmopent do-  
żołądkowo. Równoczesny brak odchyień w sudanochłonności tkanki świad-  
czy o niewielkim znaczeniu czynnościowym tych zmian. Równolegle prze-  
prowadzone badania nad wpływem Astmopentu na inne narządy mię-  
szkowe nie wykazały również uchwytnych zaburzeń w tkankach tych nar-  
ządów (12). Stosowana w tych samych warunkach doświadczalnych Izo-  
prenalina nie wywołała istotnych zmian strukturalnych (3). Podawanie  
zwierzętom laboratoryjnym Salbutamolu wywołało tylko niewielkie za-  
burzenia metabolizmu wątroby (10). Podsumowując wyniki badań, można  
wyprowadzić wniosek, że Astmopent w zastosowanych dawkach okazał  
się wobec zwierząt doświadczalnych lekiem nietoksycznym.

#### PISMIENICTWO

1. Bengen F.: Münch. Med. Wschr. **113**, 1299—1301, 1971.
2. Bloom B. M., Goldman J. M.: Advan. Drug. Res. **3**, 121—166, 1966.
3. Grzycki S., Królikowska I., Tarach J., Zarębska A.: Acta Biol. Med. Germ. (w druku).
4. Heinrich F.: Münch. Med. Wschr. **114**, 1463—1475, 1972.
5. Krygier A., Godlewski H.: Skrypt metod histochemicznych, PTHiC, Warszawa 1963.
6. Kubikowski P.: Terapia i Leki **1**, 3—12, 1973.
7. Maurer K. A., Dieter H. M., Schmidt D., Schmidt H. J., Kaufmann W.: Dtsch. med. Wschr. **96**, 749—751, 1971.
8. Pearse A. G. E.: Histochemistry. Churchill Ltd, London 1961.
9. Podlewski K., Chwalibogowska-Podlewska A.: Leki współczesnej terapii. PZWL, Warszawa 1974.
10. Rzeszowska G., Ciszewska-Popiołek B., Romanowska-Sar-  
lej J., Jędrzejewska E.: Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej  
(w druku).
11. Romeis R.: Taschenbuch der Mikroskopischen Technik, Berlin 1943.
12. Staszyc J., Czerny K., Kifer E., Jędrzejewska E.: Ann. Univ.  
M. Curie-Skłodowska, Lublin, sectio D **32**, 71—77, 1977.

Otrzymano 27 XI 1976.

#### OBJAŚNIENIA RYCIŃ

Ryc. 1. Wątroba królika. Grupa I, seria A. Barwienie sudanem czarnym. Obser-  
wuje się małą sudanofilność hepatocytów. Pow. ok. 250×.

Ryc. 2. Wątroba królika. Grupa I, seria B. Odczyn na aktywność fosfatazy kwaś-  
nej — w granicach normy. Pow. ok. 250×.

Ryc. 3. Wątroba królika. Grupa I, seria B. Odczyn na aktywność lipazy — in-  
tensywny. Pow. ok. 250×.

Ryc. 4. Wątroba królika. Grupa II, seria B. Barwienie hematoksyliną i eo-  
zyną. Występuje duża ilość ciemnych hepatocytów, zwłaszcza w otoczeniu naczyń krwio-  
nośnych. Pow. ok. 350×.

Ryc. 5. Wątroba królika. Grupa II, seria B. Barwienie sudanem czarnym. Odczyn nie różni się od spotykanego w warunkach kontrolnych. Pow. ok. 250×.

Ryc. 6. Wątroba królika. Grupa II, seria A. Odczyn na aktywność lipazy — wzmożony w komórkach gwiaździstych. Pow. ok. 250×.

Ryc. 7. Wątroba szczura. Grupa III, seria A. Barwienie sudanem czarnym — sudanofilność w granicach normy. Pow. ok. 250×.

Ryc. 8. Wątroba szczura. Grupa III, seria A. Odczyn na aktywność fosfatazy kwaśnej nie wykazuje odchyień od normy. Pow. ok. 250×.

Ryc. 9. Wątroba szczura. Grupa III, seria A. Odczyn na aktywność ATP-azy — jak w warunkach kontrolnych. Pow. ok. 250×.

Ryc. 10. Wątroba szczura. Grupa IV, seria A. Barwienie hematoksyliną i eozyną. Występują wyraźne zmiany w strukturze tkanki wątrobowej. Pow. ok. 350×.

Ryc. 11. Wątroba szczura. Grupa IV, seria B. Barwienie hematoskyliną i eozyną. Poszerzenie przestrzeni międzybłeczkowych. Pow. ok. 350×.

Ryc. 12. Wątroba szczura. Grupa IV. Seria A. Odczyn na aktywność lipazy — słaby w hepatocytach, intensywny w komórkach gwiaździstych. Pow. ok. 250×.

### РЕЗЮМЕ

Используя гистохимические методы, исследовали влияние Астмопента на печень кроликов и белых крыс. В опытных условиях не обнаружено изменений в активности гидролазов и в результатах окрашивания Суданом печеночной ткани. Это свидетельствует о небольшой токсичности этого лекарства.

### SUMMARY

By the aid of histochemical methods the effect of Astmopent on rabbit and rat livers has been studied. In the applied experimental conditions a lack of changes in the activities of some hydrolases as well as in the sudanophilic pictures of hepatic tissue have been found. This shows the low toxicity of this drug.

### EXPLANATION OF FIGURES

Fig. 1. Rabbit liver. I group, A series. Black sudan staining. A weak Sudan affinity of hepatocytes is noticeable. Magn. ca 250×.

Fig. 2. Rabbit liver. I group, B series. Reaction to acid phosphatase activity — normal picture. Magn. ca 250×.

Fig. 3. Rabbit liver. I group, B series. An intensive reaction to lipase activity. Magn. ca 250×.

Fig. 4. Rabbit liver. II group, B series. Hematoxylin and eosin staining. A large number of dark hepatocytes occur especially around blood vessels. Magn. ca 350×.

Fig. 5. Rabbit liver. II group, B series. Black sudan staining. Reaction does not differ from controls. Magn. ca 250×.

Fig. 6. Rabbit liver. II group, A series. An intensive reaction to lipase activity in stellate cells. Magn. ca 250×.

Fig. 7. Rat liver. III group, A series. Black sudan staining — normal picture. Magn. ca 250×.

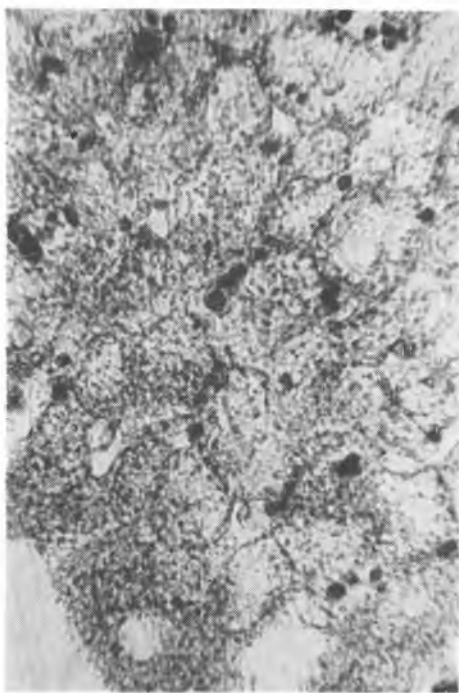
Fig. 8. Rat liver. III group, A series. Normal reaction to acid phosphatase activity. Magn. ca 250 $\times$ .

Fig. 9. Rat liver. III group, A series. Reaction to ATP-ase activity as in controls. Magn. ca 250 $\times$ .

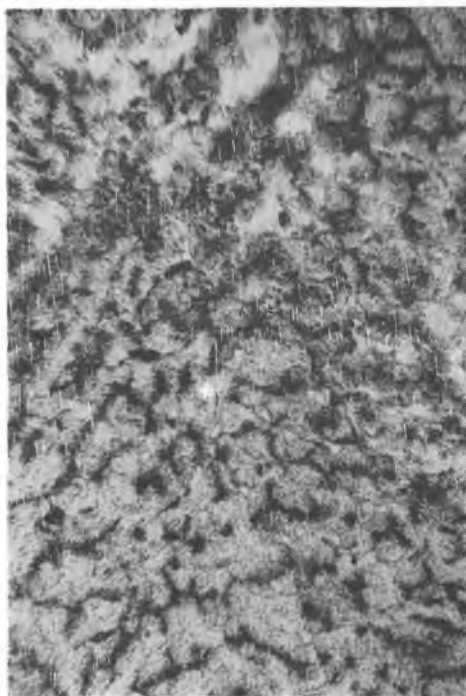
Fig. 10. Rat liver. IV group, A series. Hematoxylin and eosin staining. Well-marked structural changes occur in hepatic tissue. Magn. ca 350 $\times$ .

Fig. 11. Rat liver. IV group, B series. Hematoxylin and eosin staining. An extension of intertrabecular spaces. Magn. ca 350 $\times$ .

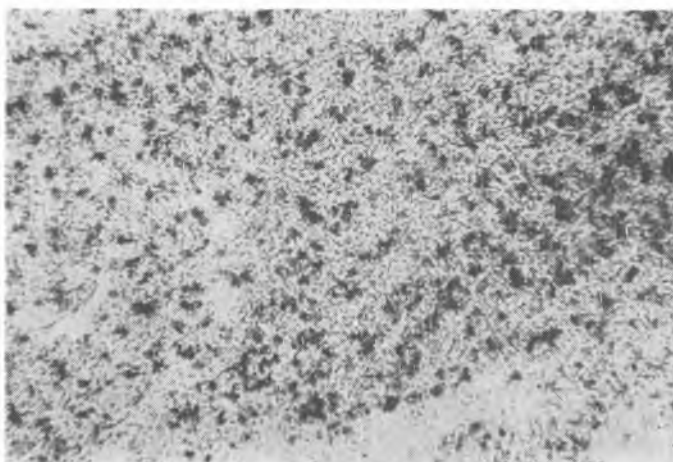
Fig. 12. Rat liver. IV group, A series. A weak reaction to lipase activity in hepatocytes, intensive reaction occurs in stennate cells. Magn. ca 250 $\times$ .



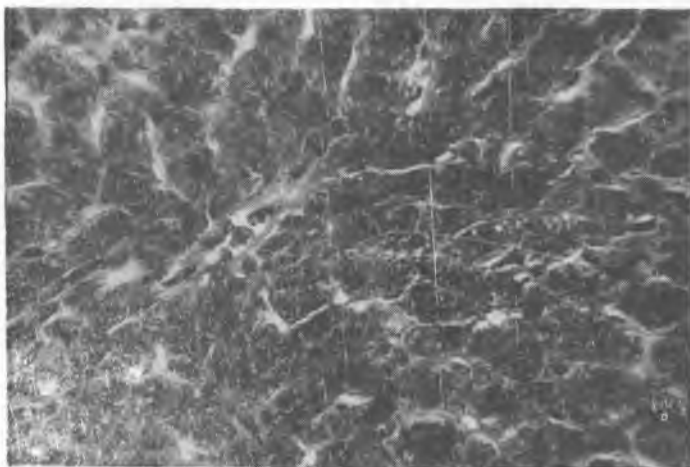
Ryc. 1



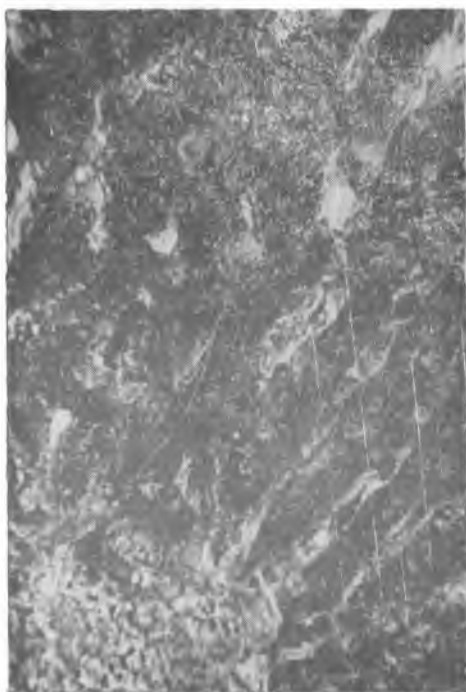
Ryc. 2



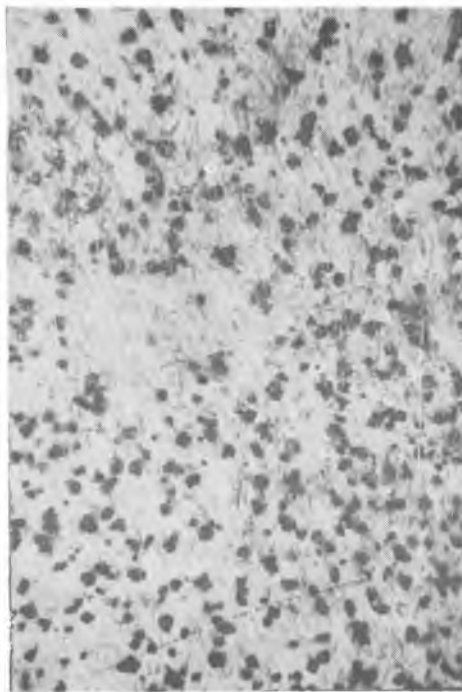
Ryc. 3



Ryc. 4

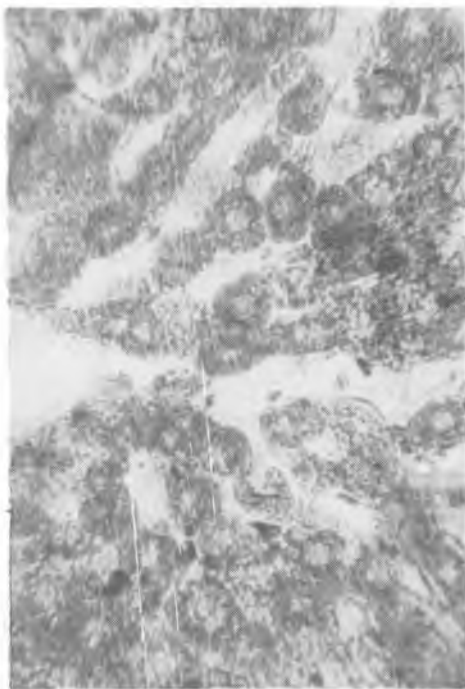


Ryc. 5

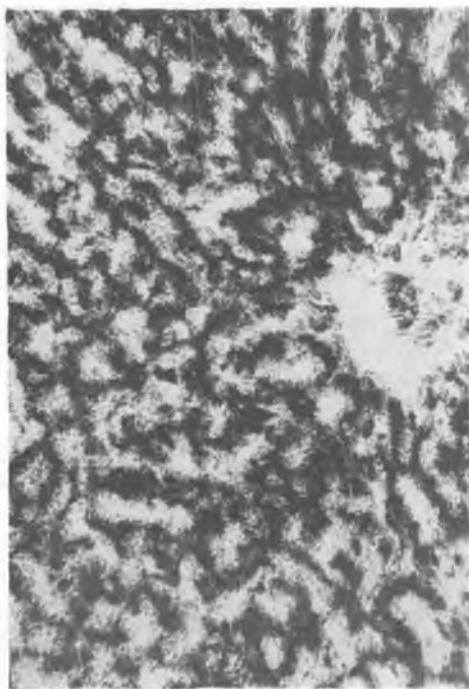


Ryc. 6

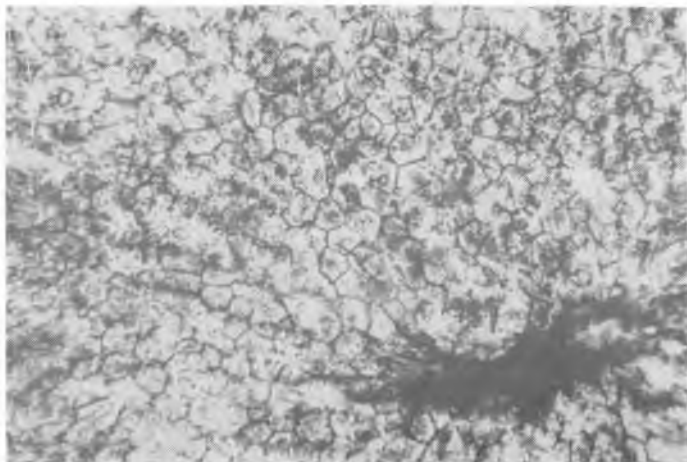




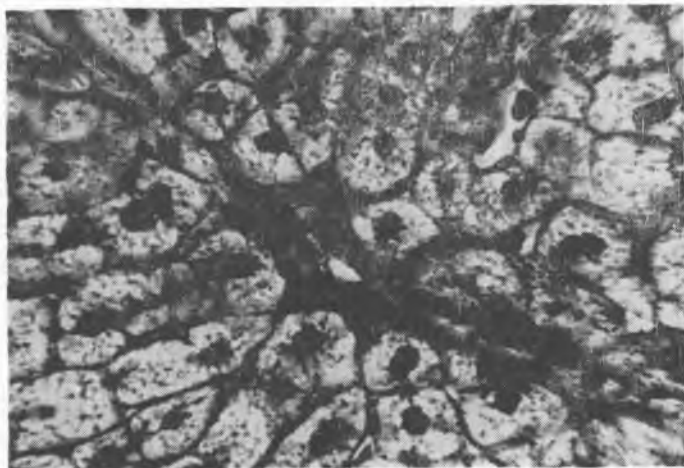
Ryc. 7



Ryc. 8



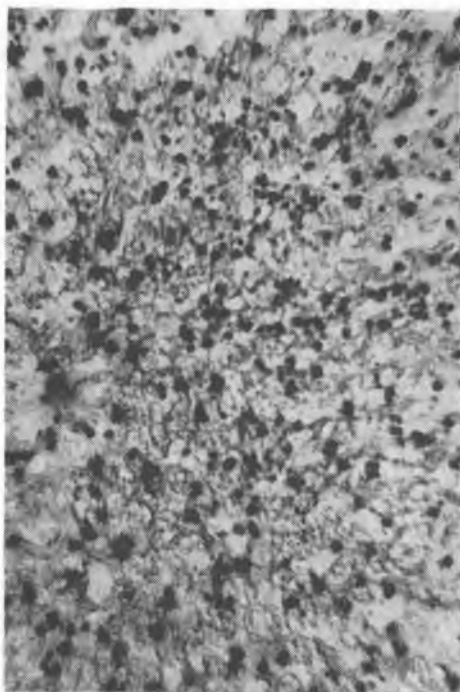
Ryc. 9



Ryc. 10



Ryc. 11



Ryc. 12