

Zakład Histologii i Embriologii. Instytut Biologiczno-Morfologiczny.  
Wydział Lekarski. Akademia Medyczna w Lublinie  
Kierownik: prof. dr hab. dr h.c. Stanisław Grzycki  
Samodzielna Pracownia Mikroskopii Elektronowej. Instytut Biologiczno-Morfologiczny  
Akademia Medyczna w Lublinie  
Kierownik: doc. dr hab. Maciej Latański

Grażyna RZESZOWSKA, Maciej LATALSKI

### Badanie ultrastruktury komórki wątrobowej u nowonarodzonych szczurów w warunkach doświadczalnych

Исследования ультраструктуры печеночной клетки у новорожденных крыс  
в экспериментальных условиях

The Ultrastructure of the Hepatic Cells in Newborn Rats under Experimental  
Conditions

Badania na zwierzętach i obserwacje u ludzi wykazały niekorzystny wpływ na embriogenezę antybiotyków, sulfonamidów, hormonów, środków uspokajających i nasennych (7). Antybiotyki przenikają szybko przez barierę łożyskową i kumulując się w tkankach płodu mogą wywierać szkodliwe działanie. Przepuszczalność bariery łożyskowej np. dla penicyliny, tetracyklin wzrasta w miarę trwania ciąży, jednakże wrażliwość komórek embrionalnych wobec różnych czynników jest odwrotnie proporcjonalna do wieku zarodka (12).

Założeniem naszej pracy była obserwacja ultrastruktury komórek wątrobowych nowonarodzonych szczurów, których matki otrzymywały ampicillinę (codziennie — tylko w pierwszym tygodniu ciąży, a także tylko w drugim i trzecim tygodniu). Interesujące było zagadnienie, czy ampicilina, antybiotyk o szerokim spektrum działania, przenikający z łatwością przez łożysko, który można podawać w ciąży, zaburza ultrastrukturę hepatocytów noworodków.

#### MATERIAŁ I METODYKA

Badania przeprowadzono na 24 nowonarodzonych szczurach, których matki otrzymywały w okresie ciąży preparat Ampicillin Trihydrate firmy „Medexport” w dawce jednorazowej 1,5 ml 0,25% roztworu, co stanowi 3,75 mg. Lek ten podawano zwierzętom dożyłkowo w ciągu 7 dni, przy czym stosowano go w różnych okresach ciąży. I tak pierwsza grupa samic ciężarnych miała podawaną ampicillinę przez okres pierwszego tygodnia ciąży, druga grupa — przez okres drugiego tygodnia, a trzecia grupa — przez okres trzeciego tygodnia ciąży. Ciążę określano na podstawie obrazu wymazów pochwowych. Analogicznie postępowano z samicami, których potomstwo miało stanowić grupę kontrolną, z tym że zamiast ampiciliny używano fizjologicznego roztworu soli w takiej samej objętości. Do doświadczenia użyto 12 samic, od których pobierano po 2 noworodki.

Materiał do badań stanowiły wycinki wątroby, które utrwalano w 6% aldehydzie glutarowym, a następnie w 1% czterotlenku osmu. Stosowano bufor kaskodylowy o pH 7,2. Po odwodnieniu wycinków w alkoholach o wzrastającym stężeniu zatapiano je w Eponie 812. Skrawki sporządzano na ultramikrotomie Tesla BS 490, a preparaty oglądano i fotografowano w mikroskopie elektronowym Tesla BS 613.

#### BADANIA WŁASNE

**Grupa kontrolna.** Analiza elektronomikrofotogramów sporządzonych z preparatów wszystkich zwierząt kontrolnych wykazała typową budowę hepatocytów nowonarodzonych szczurów. Fakt podawania matkom dożyłdkowo w różnych okresach ciąży fizjologicznego roztworu soli nie wpływał na strukturę komórek wątrobowych. Z tego względu cały materiał kontrolny potraktowano jako jedną grupę.

Komórki wątrobowe (ryc. 1) były otoczone wyraźną otoczką i posiadały kształt wieloboczny. Pomiedzy sąsiadującymi komórkami widoczne były kanalikuli żółciowe, utworzone przez wpuklenia otoczek komórkowych. Do światła kanalików wnikały mikrokosmki. W cytoplazmie komórek stwierdzano dużą ilość owalnych lub okrągłych mitochondriów, o typowej budowie, rozmieszczonych równomiernie na terenie całej komórki. Obok przekrojów kanałów gładkiej siatki śródplazmatycznej widoczne też były ziarniste błony ergastoplazmy. W cytoplazmie podstawowej widoczne były ziarna glikogenu i wolno leżące rybosomy, rozmieszczone równomiernie w całej komórce. Licznie były reprezentowane ciała gęste. Wyróżniano wśród nich mikrociała (peroksyosomy) oraz lizosomy. Te ostatnie zlokalizowane były zwykle w pobliżu kanalików żółciowych. Struktury Golgiego w postaci spłaszczonych woreczków i niedużych pęcherzyków spotykano najczęściej w strefie przyjądrowej. W niektórych komórkach występowały pojedyncze krople lipidów. Jądra komórkowe posiadały kształt okrągły lub owalny. Wykazywały typową strukturę wewnętrzną i posiadały zwykle dobrze widoczne jąderka.

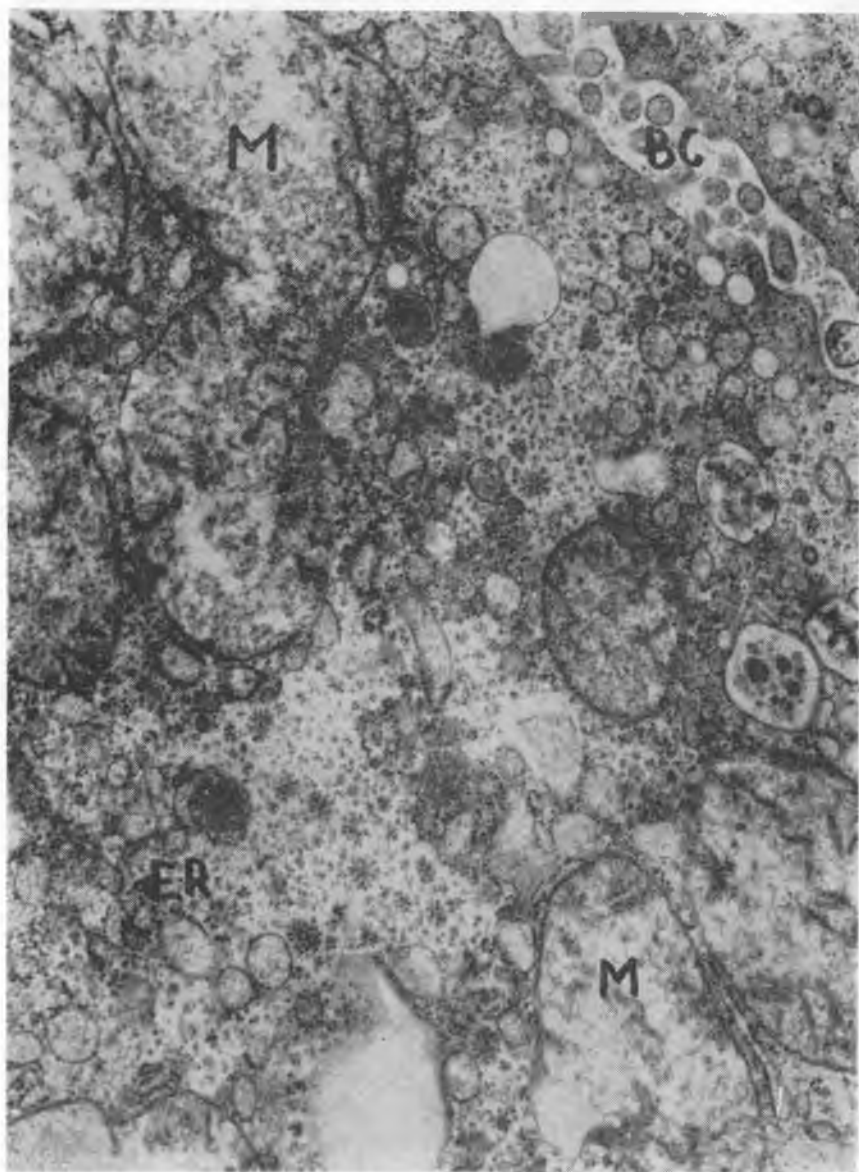
**Grupa doświadczalna.** Do grupy tej zaliczono wszystkie zwierzęta, których matki otrzymywały w czasie ciąży użyty w doświadczeniu antybiotyk. Na podstawie przeprowadzonych obserwacji stwierdzono, że zmiany występowały jedynie w hepatocytach nowonarodzonych szczurów w tych przypadkach, kiedy matce podawano ampicillinę w pierwszym tygodniu ciąży. Spostrzeżone zmiany w ultrastrukturze komórek wątrobowych dotyczyły głównie mitochondriów (ryc. 2). Organoidy te wykazywały obrzmienie oraz zaburzenie struktury wewnętrznej. Polegało ono na zniszczeniu dużej ilości grzebieni mitochondrialnych oraz przejaśnieniach w obrębie substancji macierzystej. Otoczki mitochondrialne z reguły pozostawały nieuszkodzone. Zmianom takim ulegała większość mitochondriów każdej komórki, ale zwykle obok uszkodzonych spotykano mitochondria o niezmienionym wyglądzie. Poza zmianami dotyczącymi mitochondriów stwierdzono w tych samych komórkach zmniejszenie ilości elementów ergastoplazmy oraz niewielkiego stopnia poszerzenie kanałów siatki śródplazmatycznej. Pozostałe struktury komórkowe nie wykazywały uchwytnych różnic w porównaniu z kontrolą. Niezmienione były też jądra hepatocytów.

Komórki wątrobowe pozostałych zwierząt doświadczalnych, a więc tych, których matki otrzymywały antybiotyk w drugim lub trzecim tygodniu ciąży, charakteryzowały się typową budową i w porównaniu z hepatocytami zwierząt grupy kontrolnej nie wykazywały zmian w ultrastrukturze (ryc. 3).



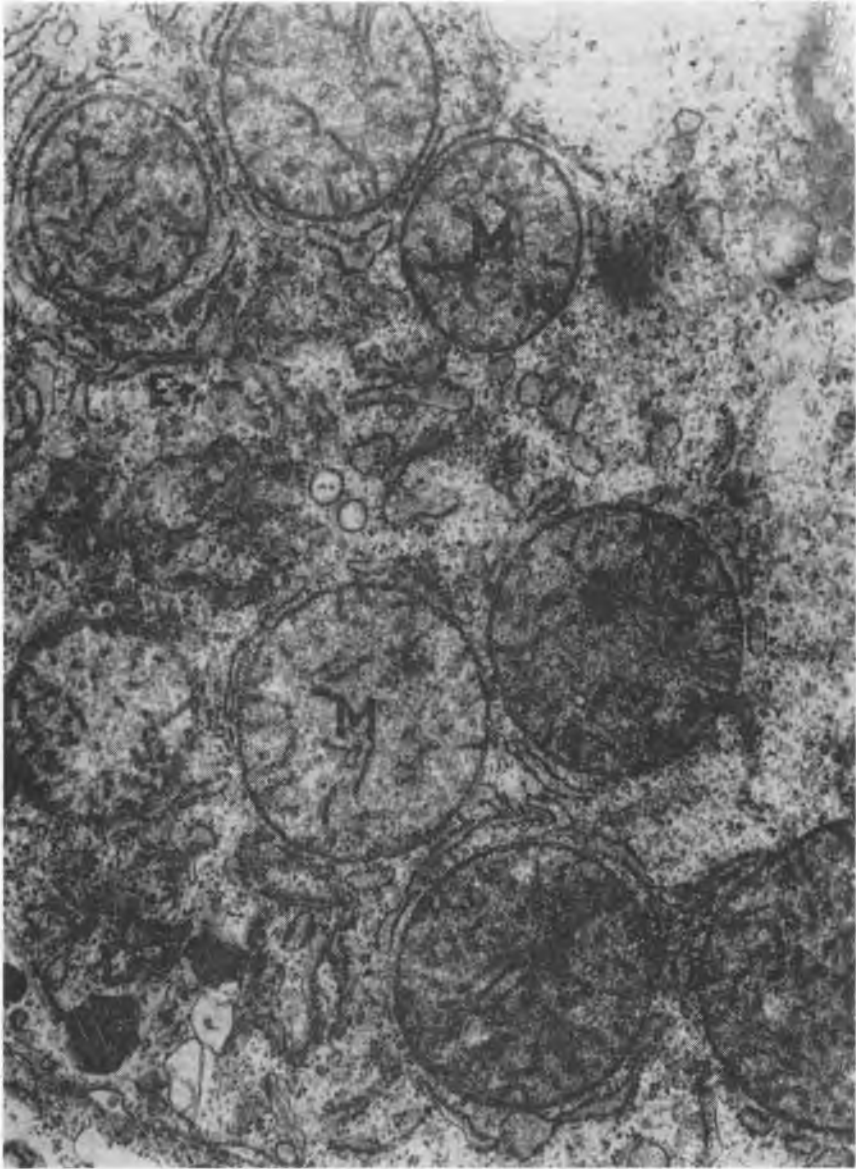
Fot. 1. Grupa kontrolna. Komórka wątrobowa szczura, BC — kanalik żółciowy, M — mitochondria, Mb — mikrociała, ER — gładka siatka śródplazmatyczna, Er — ergastoplazma, N — jądro. Pow. ok. 30 000X

The control group. A hepatic rat cell; BC — biliary canaliculus, M — mitochondria, Mb — microbodies, ER — agranular endoplasmic reticulum, Er — ergastoplasmic elements, N — nucleus. Magn. ca. 30 000X



Fot. 2. Grupa doświadczalna. Komórka wątrobowa szczura, którego matka otrzymywała ampicillinę w ciągu pierwszego tygodnia ciąży; BC — kanalik żółciowy, M — mitochondria, ER — gładka siatka śródplazmatyczna. Pow. ok. 50 000X

Experimental group. A hepatic cell of a rat a the mother of which was given „Ampicillina” during the first gestation period; BC — billiary canaliculus, M — mitochondria, ER — agranular endoplasmic reticulum. Magn. ca. 50 000X



Fot. 3. Grupa doświadczalna. Komórka wątrobowa szczura, którego matka otrzymywała ampicillinę w ciągu drugiego tygodnia ciąży; M — mitochondria, Er — ergastoplazma, L — lipidy. Pow. ok. 50 000X

Experimental group. A hepatic cell of a rat the mother of which was given „Ampicillina” during two weeks of gestation period; M — mitochondria, ER — ergastoplasmatic elements, L — lipids. Magn. ca. 50 000X

## OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ

Poszukiwania nowych antybiotyków prowadzone na całym świecie zmierzają do uzyskania preparatów, które działałyby zabójczo na drobnoustroje, nie wykazując ubocznego wpływu na makroorganizm. Jednym z największych osiągnięć ostatnich lat jest wprowadzenie do terapii penicillin półsyntetycznych. Zaletą ich jest m.in. łatwe wchłanianie się z przewodu pokarmowego, możliwość uzyskania wysokiego i długotrwałego stężenia we krwi oraz mała toksyczność. Do penicillin półsyntetycznych należy użyta w naszym doświadczeniu ampicillina (penicillina-aminobenzylowa). Należy do antybiotyków, które nie rozkładają się w środowisku kwaśnym, można więc ją podawać doustnie, działa na bakterie Gram (+) i Gram (—), szybko przenika przez łożysko, a wg niektórych autorów cięża nie stanowi przeciwwskazań do jej podawania (5, 6).

Zarodki wszystkich gatunków zwierząt i człowieka wykazują wielką wrażliwość na działanie bodźców zewnętrznych, zwłaszcza w początkowym okresie rozwoju. Prowadzono badania nad wpływem tetracyklin na rozwój zarodków szczurów białych. Wyniki oceniano pod kątem zmian ciężaru ciała, proporcji anatomicznych oraz liczby zresorbowanych płodów w stosunku do grupy kontrolnej. Okazało się, że krytycznym okresem dla działania tetracykliny na wzrost zarodków jest 10, 11, 12 dzień ciąży. Liczba płodów zresorbowanych po podaniu tetracykliny wzrasta znacznie w porównaniu z kontrolą, natomiast nie wykazano żadnej korelacji wobec dawki leku (9).

Na podstawie obserwacji stwierdzono, że zmiany w ultrastrukturze hepatocytów wystąpiły u noworodków szczurów, których matki otrzymywały ampicillinę w pierwszym tygodniu ciąży. Jest to zgodne z ugruntowanym twierdzeniem, że początkowe etapy rozwoju są najbardziej wrażliwe na różnorodne bodźce. Komórki wątrobowe w pierwszych dniach po urodzeniu nie są identyczne w obrazie submikroskopowym z hepatocytami dojrzałej wątroby. Proces różnicowania się morfologicznego i enzymatycznego odbywa się jeszcze do ok. 15 dnia życia. Liczne peroksyzomy obserwowane przez nas w grupie kontrolnej są jeszcze pozostałością okresu płodowego. W następnych dniach życia liczba ich ulegnie redukcji, a w 5 dniu po urodzeniu będzie podobna jak w wątrobie dorosłego szczura (1, 4).

Struktura wewnętrzna jądra, układ mitochondriów, kanały gładkiej siatki śródplazmatycznej u badanych zwierząt przypominały już hepatocyty dojrzałe. Zmiany w ultrastrukturze komórek wątrobowych w przeprowadzonym doświadczeniu dotyczyły głównie mitochondriów elementów ergastoplazmy oraz w niewielkim stopniu kanałów siatki śródplazmatycznej. Mogą one świadczyć o zaburzeniu procesów oddechowych w komórce i obniżeniu jej zdolności metabolicznych. Podobne wyniki uzyskali w wątrobie szczura Dragieff i wsp. (3) w ostrym zatruciu alkoholem. Na szczególne podkreślenie zasługuje wystąpienie deformacji i obrzmienia mitochondriów oraz poszerzenie kanałów siatki śródplazmatycznej. W obrazie komórki wątrobowej szczura w mikroskopie elektronowym np. w przewlekłym zatruciu czterochlorkiem węgla czy w przebiegu śmiertelnego wstrząsu oparzeniowego poza szeregiem innych zmian zwykle na plan pierwszy wysuwały się zmiany w mitochondriach, ergastoplazmie, w siatce śródplazmatycznej (10, 11). Obrzmienie mitochondriów, zniszczenie grzebieni, „przejaśnienia” w substancji macierzystej, zmniejszenie ilości elementów ergastoplazmy oraz poszerzenie kanałów siatki śródplazmatycznej obserwowane przez nas jest także odpowiedzią komórki wątrobowej

na choroby zakaźne, intoksykację zaburzenia w odżywianiu (2). Według Rouillera (8) komórka wątrobowa na każdy stan patologiczny odpowiada zmienioną strukturą, z tym jednak że ta reakcja „na agresję” może wyrażać się w formie adaptacyjnej lub degeneracyjnej. Wyżej wspomniany autor uważa, że rozróżnienie tych obrazów w mikroskopie elektronowym nastęrcza jeszcze duże trudności.

Reasumując wyniki naszego doświadczenia, należy stwierdzić, że ampicilliną podawana szczurom w pierwszym tygodniu ciąży zmieniła ultrastrukturę hepatocytów badanych noworodków. Natomiast nie uchwycono różnicy w ultrastrukturze komórek wątrobowych noworodków w porównaniu z kontrolą, jeśli ampicillinę podawano matkom w drugim i trzecim tygodniu ciąży. Porównując wyniki doświadczeń z cytowanego piśmiennictwa z naszymi nasuwa się wniosek, że uzyskane zmiany stanowią niespecyficzną reakcję komórki podlegającej działaniu bodźca. W doświadczeniu nie dokonano obserwacji odległych, na podstawie których możliwa byłaby ocena ewentualnej regresji opisanych zmian. Na podstawie uzyskanych obrazów ultrastrukturalnych (brak uszkodzeń otoczek mitochondrialnych) można jednak przypuszczać, że posiadają one charakter odwracalny.

#### PIŚMIENICTWO

1. Dadoune J. P.: *Archiv. Anat. Micr. Morph. Exp.*, 52, 517—573, 1963.
  2. David D.: *Archiv. Anat. Micr. Morph. Exp.*, 62, 1—13, 1973.
  3. Dragieff M., Mitkoff D.: *Folia Morph.* (Praga), 22, 33—36, 1974.
  4. Dupouy J. P.: *Archiv. Anat. Micr. Morph. Exp.*, 59, 51—66, 1970.
  5. Kocsis B., Vöröss E., Vöröss S., Jarabán J.: *Therapia Hungarica*, 1, 27—33, 1973.
  6. Kuryłowicz W., Kowszyk-Gindifer Z.: *Post. Hig. Med. Dośw.*, 19, 469—491, 1965.
  7. Maszkiewicz W.: *Wiad. Lek.*, 22, 1975—1980, 1969.
  8. Rouiller Ch.: *Triangle*, 9, 209—220, 1970.
  9. Szumigowska-Szrajber G., Jeske J.: *Acta Pol. Farm.*, 8, 95—101, 1973.
  10. Węgiel J.: *Biul. Wojsk. Akad. Med.*, 13, 461—471, 1970.
  11. Węgiel J.: *Biul. Wojsk. Akad. Med.*, 11, 255—262, 1968.
  12. Zólciniński A., Heimrath T., Rzucidło Z.: *Ginek. Pol.*, 36, 945—949, 1965.
- Otrzymano 12 XI 1974.

#### РЕЗЮМЕ

Исследования проведено на 24 новорожденных крысах, матерям которых во время беременности подавали ампициллин. Установлено, что ампициллин подаваемый крысам на первой неделе беременности изменил ультраструктуру гепатоцитов исследованных новорожденных крыс. По сравнению с контрольной группой, не обнаружено различия в ультраструктуре печеночных клеток новорожденных крыс, если их матерям подавали ампициллин на 2 и 3 неделе беременности.

#### SUMMARY

Examinations were carried out on 24 newborn rats, the mothers of which were treated with "Ampicillina" during the gestation period. It was found that "Ampicillina" applied to the rats in the first week of gestation changed the ultrastructure of the hepatic cells in the examined newborn rats. No differences in the ultrastructure of the hepatic cells were found in the newborn rats in comparison with the control group when the female rats were given "Ampicillina" in the second and third week of the gestation period.

