

lub rozpuszczalnika szczury dekapitowano, a następnie pobierano wycinki wątroby i jelita cienkiego do badań histologicznych (hematoksyliną i eozyzną) i histochemicznych. Materiał utrwalano w płynie Bakera bądź w płynie Carnoya. Wykonano następujące testy histochemiczne: aktywność fosfataz: kwaśnej (Fk) i zasadowej (Fz) wykrywano wg metod Gomoriego, glukozy-6-fosfatazy (G-6-P-azy) i adenozynotrójfosfatazy (ATP-azy) według metod Wachsteina i Meisel, lipazy — według metody Gomoriego i Takamatsu, glikogenu — metodą PAS według McManusa.

WYNIKI BADAŃ

Wątroba

Fosfataza kwaśna u zwierząt grupy I doświadczalnej wykazywała znacznie intensywniejszy odczyn w porównaniu z grupą kontrolną. Aktywne ziarnistości obserwowano nie tylko przy kanalikach żółciowych, ale również w całej cytoplazmie hepatocytów. Komórki siateczkowo-śródbłonkowe gwiazdźdźiste były bardzo powiększone i charakteryzowały się mocnym zabarwieniem. W grupie II doświadczalnej aktywność Fk zmniejszyła się w porównaniu z grupą I. Lokalizacja barwnych ziaren przypominała preparaty kontrolne. Komórki siateczkowo-śródbłonkowe gwiazdźdźiste w dalszym ciągu były znacznie powiększone (ryc. 1 i 2).

Aktywność ATP-azy obserwowana w wątrobie zwierząt kontrolnych w kanalikach żółciowych i ścianach naczyń krwionośnych zwiększyła się w grupie I doświadczalnej, przy czym pojawił się silny odczyn dyfuzyjny w cytoplazmie hepatocytów. W grupie II doświadczalnej wystąpiło ponadto brunatne zabarwienie w komórkach siateczkowo-śródbłonkowych gwiazdźdźistych (ryc. 3 i 4).

Odczyn na G-6-P-azę u szczurów kontrolnych uwidaczniał się szczególnie w okolicach obwodowych zrazików, natomiast na terenie hepatocytów barwne ziarnistości lokalizowały się w pobliżu błon komórkowych. W wątrobie szczurów grup doświadczalnych intensywność reakcji zmniejszyła się; nie zauważono również różnicy w zabarwieniu poszczególnych stref zrazika (ryc. 5).

Lipaza wykazywała silną reakcję w komórkach siateczkowo-śródbłonkowych gwiazdźdźistych wątroby kontrolnej. W grupach I i II doświadczalnych aktywność tego enzymu była słabsza, ujawnił się natomiast odczyn dyfuzyjny w hepatocytach (ryc. 7 i 8).

Rozmieszczenie glikogenu w wątrobie zwierząt zarówno grupy kontrolnej, jak i grupy II doświadczalnej, przypominało charakterystyczną mozaikę, natomiast u szczurów grupy I doświadczalnej komórki z większą ilością ziaren PAS dodatnich występowały na terenie zrazika wątrobowego wokół żyły środkowej. W okolicach obwodowych zrazika barwnych ziaren było znacznie mniej (ryc. 6).

Standardowe barwienie skrawków nie wykazało zauważalnych różnic między wątrobą zwierząt grupy kontrolnej i grup doświadczalnych.

Jelito cienkie

Silna reakcja na fosfatazę kwaśną w komórkach nabłonka jelita cienkiego zwierząt kontrolnych ujawniła się w postaci drobnych ziarnistości w enterocytach kosmków jelitowych oraz gruczołów Liebenkühna. Po 7 dniach podawania leku aktywność enzymu nie uległa zmianie, natomiast po 14 dniach wydawała się mniejsza w kosmkach jelitowych, a nieco większa w gruczołach. Komórki śluzowe odczynu nie wykazywały (ryc. 9).

Dużą aktywność fosfatazy zasadowej w jelicie kontrolnym obserwowano przede wszystkim w rąbku prążkowanym nabłonka kosmków jelitowych, mniejszą — w gruczołach Lieberkühna. Reakcja ta wzrosła u zwierząt grup doświadczalnych I i II, obejmując również zrąb kosmków (ryc. 10).

Glukozo-6-fosfataza wykazywała w materiale kontrolnym silny odczyn w nabłonku jelitowym, lokalizujący się wokół jąder komórkowych. Słabszą aktywność enzymu zauważono w gruczołach jelitowych. W grupie I doświadczalnej odczyn w nabłonku jelitowym zwiększył się, a w jelicie zwierząt grupy II doświadczalnej nastąpiło przemieszczenie barwnych ziarnistości do dystalnych okolic enterocytów (ryc. 11 i 12).

Aktywność lipazy obserwowano u szczurów kontrolnych w komórkach gruczołów Lieberkühna. U zwierząt grup doświadczalnych I i II reakcja barwna w gruczołach zwiększyła się; również w ich świetle wystąpiło dyfuzyjne zabarwienie.

Barwienie hematoksyliną i eozyną wykazało prawidłowy obraz histologiczny jelita u wszystkich badanych zwierząt.

DYSKUSJA

Bilocol, jak podaje piśmiennictwo (1, 7), bywa stosowany między innymi w tzw. zespole pocholecystektonicznym, dlatego w naszych badaniach użyto do doświadczeń zwierząt nie posiadających pęcherzyka żółciowego. Wybrane odczyny histochemiczne miały na celu wykazanie ewentualnych zmian wewnątrzkomórkowych w wątrobie oraz jelicie cienkim.

W wątrobie aktywność fosfatazy kwaśnej wzrastała po podaniu leku, ale intensywniejsza była u zwierząt grupy I doświadczalnej niż II. Zwracał uwagę szczególnie silny odczyn w komórkach siateczkowo-śródbłonkowych gwiazdzistych wątroby obu grup doświadczalnych, sygnalizując wzmożone procesy lityczne. Otrzymane wyniki potwierdzają opinię S t a-

szyca i wsp. (10), że Fk odgrywa bardzo ważną rolę w detoksykacyjnej funkcji wątroby.

W jelicie cienkim, którego jedynie błona śluzowa wykazywała wrażliwość na stosowane odczyny histochemiczne, fosfatazę kwaśną charakteryzowały niewielkie zmiany aktywności występujące dopiero po 14 dniach podawania Bilocolu. Wyrażały się one zmniejszeniem odczynu w nabłonku kosmków jelitowych oraz zwiększeniem w gruczołach Lieberkühna. Zmiany te związane były zapewne z mikrometabolizmem w cytoplazmatycznych strukturach oraz w błonach lizosomalnych, enzym ten bowiem bierze udział przede wszystkim w procesach wewnątrzkomórkowego trawienia (6, 9).

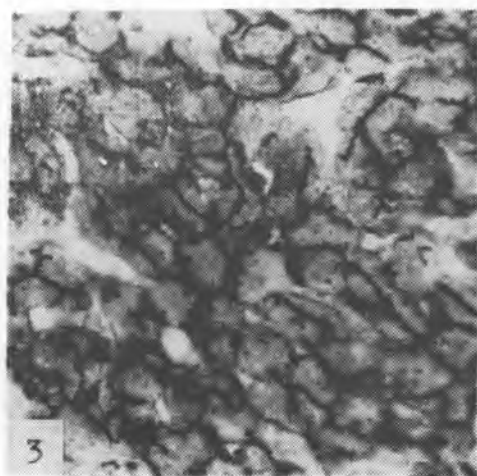
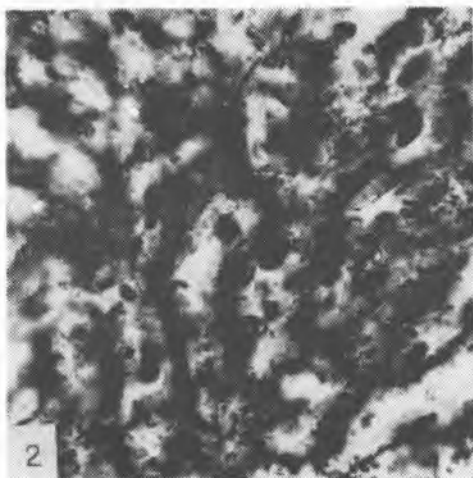
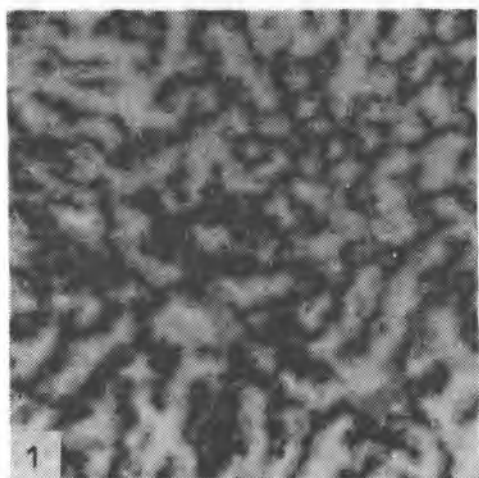
Aktywność adenosynotrójfosfatazy wykrywano jedynie w wątrobie. ATP-aza związana jest z aktywnym transportem przez błony komórkowe, bierze też udział w rozbiciu wiązań kwasu adenosynotrójfosforowego i wyzwolaniu dużej ilości energii wykorzystywanej w procesach metabolicznych (10). Zmiana odczynu na ATP-azę zależy przede wszystkim od rodzaju substancji działającej na komórkę, Bilocol zatem podawany przez 14 dni spowodował zwiększenie reakcji barwnej nie tylko przy kanalikach żółciowych, ale również w hepatocytach i komórkach siateczkowo-śródbłonkowych gwiaździstych. Lek ten wpłynął więc na przepuszczalność błon komórkowych.

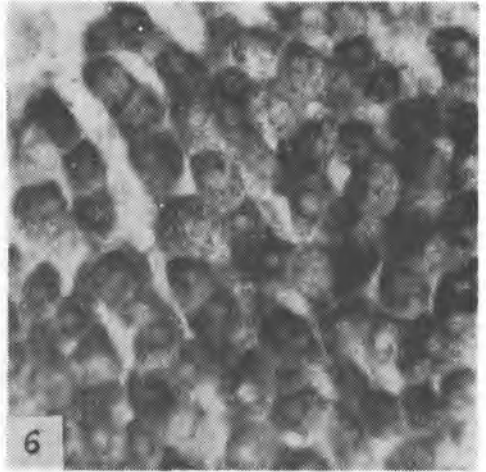
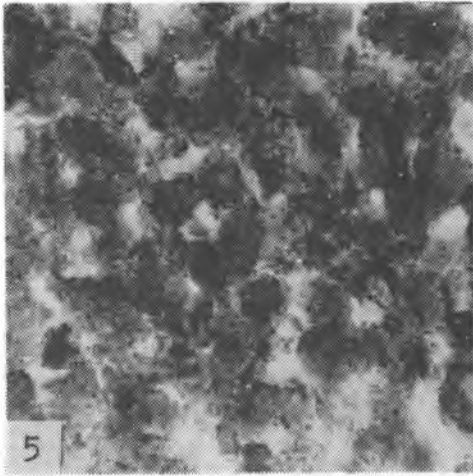
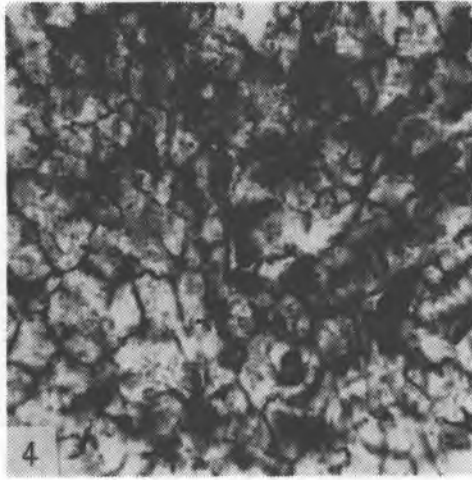
Glukoza-6-fosfataza, enzym siateczki śródplazmatycznej, odgrywa decydującą rolę w procesie regulacji poziomu cukru we krwi, dostarczając do krwioobiegu wolną glukozę (4, 8). W wątrobie enzym ten jest przenośnikiem niektórych składników tworzących żółć i odgrywa rolę w jej syntezie. Niewielkie zmiany w odczynie G-6-P-azy, obserwowane w niniejszych badaniach, sugerują normalny jej udział w wymienionych procesach. W błonie śluzowej jelita, aktywność G-6-P-azy również nie wykazywała znacznych odchyień od obrazu kontrolnego, sądzić więc można, że podawany preparat nie zaburzał udziału tego enzymu w transporcie elektrolitów, z którym też jest związany (2, 5).

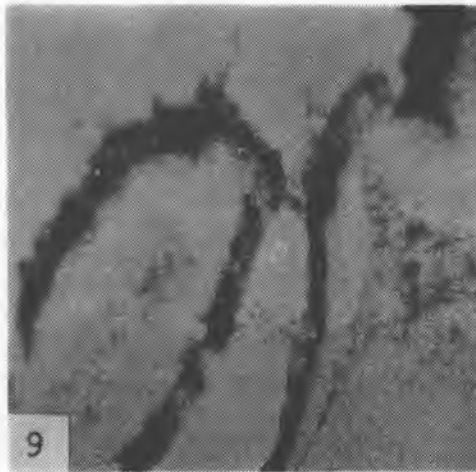
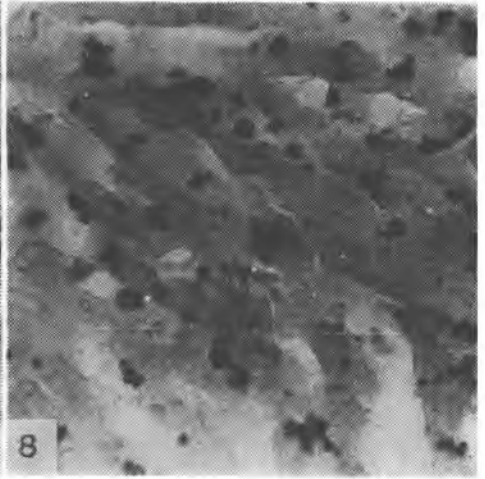
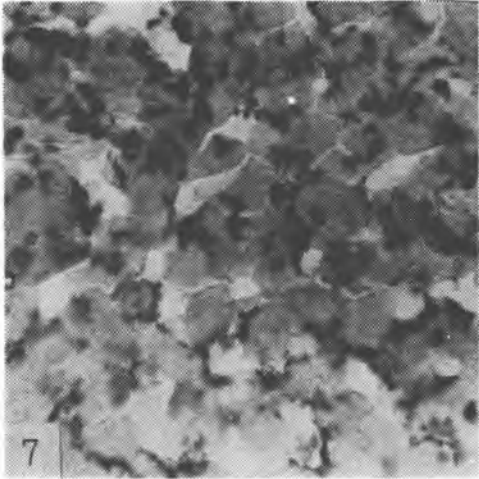
Bilocol nie wywarł także dużego wpływu na aktywność lipazy, enzymu katalizującego rozkład estrów glicerolu i kwasów tłuszczowych. Zarówno w wątrobie, jak i w jelicie cienkim obserwowano jedynie niewielkie zmiany w reakcji enzymu.

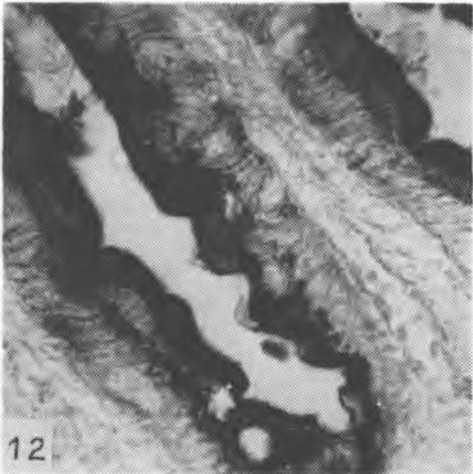
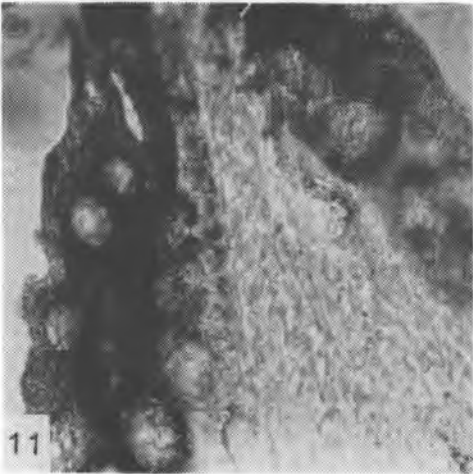
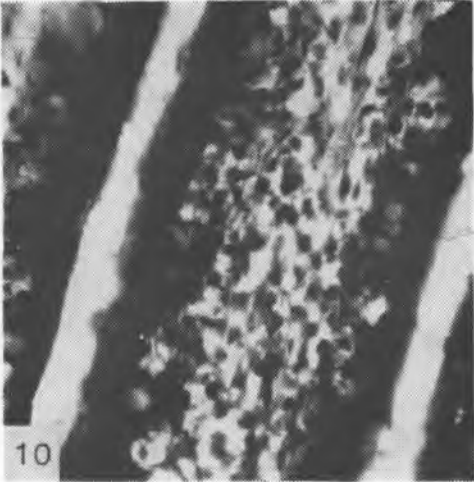
Glikogen wykrywano tylko w wątrobie. Układ PAS dodatnich ziarnistości w grupach kontrolnej i II doświadczalnej był podobny. Jedynie wątroba zwierząt grupy I doświadczalnej wykazywała odmienny obraz. Może to sugerować, że przyspieszona synteza glikogenu w hepatocytach strefy stałego spoczynku (8) po dłuższym podawaniu leku powraca do normy.

Poza wyżej opisanymi wykonano też test na fosfatazę zasadową w je-









licie cienkim. Enzym ten bierze udział między innymi w aktywnym transporcie przez błony komórkowe (3, 9). Znacznie zwiększony odczyn w enterocytach pod wpływem Bilocolu świadczy zapewne o wzmożeniu tych procesów.

Reasumując uzyskane wyniki sądzić należy, że Bilocol nie wywiera dużego wpływu na aktywność enzymatyczną wątroby, a także nabłonka błony śluzowej jelita cienkiego, wywołane bowiem zmiany można uznać za fizjologiczne. Warto też zaznaczyć, jak podaje Wójtowicz - Adamska (11), że pod wpływem soli żółciowych w jelicie cienkim uwalniana jest sekretyna, która przyspiesza wydzielanie enzymów i dwuwęglanów przez trzustkę, wątrobę i gruczoły Brunnera. Ponadto żółć działa hamująco na zdolność wydzielniczą żołądka (w tym: kwasu solnego), co ma niebagatelne znaczenie w zapobieganiu owtzodzeniom dwunastnicy (11).

PIŚMIENNICTWO

1. Białkowska J., Słomski J.: Ocena kliniczna preparatu „Bilocol”. Biuletyn Informacyjny 15, 249, 1965.
2. Calvert R. i wsp.: Development Pattern of Glucose-6-Phosphatase Activity in the Small Intestine of the Mouse Fetus. Histochemistry 63, 209, 1979.
3. Gutschmidt S. i wsp.: Kinetic Characterization of Unspecific Alkaline Phosphatase at Different Villus Sites of Rat Jejunum. Histochemistry 69, 189, 1980.
4. Leskes A. i wsp.: Differentiation of Endoplasmic Reticulum Hepatocytes. I. Glucose-6-Phosphatase Distribution *in situ*. I. Cell. Biol. 49, 264, 1971.
5. Ménard D.: Ultrastructural Localization of Intestinal Glucose-6-Phosphatase Activity during the Postnatal Development of the Mouse. Histochemistry 67, 53, 1982.
6. Ono K.: Ultrastructural Localization of Acid Phosphatase Activity in the Small Intestinal Absorptive Cells of Adult Rats. Histochemistry 62, 113, 1979.
7. Podlewski J. K., Chwalibogowska - Podlewska A.: Leki współczesnej terapii. PZWL, Warszawa 1978.
8. Rappaport A. M.: Hepatic Circulation and Structure. Das Medizinische Prisma 1, 12, 1979.
9. Staszyc J.: Wpływ doświadczalnej wagotomii na cytofizjologię komórek enterochromafinowych. Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Lublin, Sectio D 26, 191, 1971.
10. Staszyc J.: Badania doświadczałne nad wpływem Foschloru na pierwotnie uszkodzoną wątrobę. Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Lublin, Sectio D 33, 236, 1976.
11. Wójtowicz - Adamska I.: Wpływ zespolenia przewodu żółciowego wspólnego z jelicem cienkim na wydzielanie kwasu solnego u psów po zastosowaniu maksymalnego bodźca histaminowego. Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Lublin, Sectio D 27, 287, 1972.

Otrzymano 20 XII 1982.

OBJAŚNIENIA RYCIN

Ryc. 1. Aktywność fosfatazy kwaśnej w wątrobie szczura kontrolnego. Metoda Gomoriego. Pow. ok. 200×.

Ryc. 2. Aktywność fosfatazy kwaśnej w wątrobie szczura grupy II doświadczalnej. Metoda Gomoriego. Pow. ok. 400×.

Ryc. 3. Aktywność ATP-azy w wątrobie szczura kontrolnego. Metoda Wachsteina i Meisel. Pow. ok. 400×.

Ryc. 4. Aktywność ATP-azy w wątrobie szczura grupy II doświadczalnej. Metoda Wachsteina i Meisel. Pow. ok. 400×.

Ryc. 5. Aktywność G-6-P-azy w wątrobie szczura grupy I doświadczalnej. Metoda Wachsteina i Meisel. Pow. ok. 400×.

Ryc. 6. Wątroba szczura grupy II doświadczalnej. Odczyn na glikogen według metody McManusa. Pow. ok. 400×.

Ryc. 7. Aktywność lipazy w wątrobie szczura kontrolnego. Metoda Gomoriego i Takamatsu. Pow. ok. 400×.

Ryc. 8. Aktywność lipazy w wątrobie szczura grupy I doświadczalnej. Metoda Gomoriego i Takamatsu. Pow. ok. 400×.

Ryc. 9. Aktywność fosfatazy kwaśnej w jelicie cienkim szczura grupy II doświadczalnej. Metoda Gomoriego. Pow. ok. 200×.

Ryc. 10. Aktywność fosfatazy zasadowej w jelicie cienkim szczura grupy I doświadczalnej. Metoda Gomoriego. Pow. ok. 400×.

Ryc. 11. Aktywność G-6-P-azy w jelicie cienkim szczura kontrolnego. Metoda Wachsteina i Meisel. Pow. ok. 400×.

Ryc. 12. Aktywność G-6-P-azy w jelicie cienkim szczura grupy II doświadczalnej. Metoda Wachsteina i Meisel. Pow. ok. 400×.

РЕЗЮМЕ

Крысы-самцы получали Билоколь в дозе 250 мг в течение 7 и 14 дней. Взятые отрезки печени и тонкой кишки подданы были гистологическим (гематоксилин и эозин) и гистохимическим исследованиям. В печени обнаружено активность кислой фосфатазы, аденозинотрифосфатазы, глюкозо-6-фосфатазы, липазы и гликогена. В тонкой кишке обнаружено активность кислой, щелочной фосфатазы, глюкозо-6-фосфатазы и липазы.

Определено, что Билоколь, особенно после 7-дневного применения, вызывал незначительные внутриклеточные расстройства, замечаемые благодаря гистохимической технике. Гистологические исследования не обнаружили повреждений в паранхиме печени и тонкой кишки.

SUMMARY

Female rats were given Bilocol in a dose of 250 mg for 7 and 14 days. Liver and small intestine samples were subsequently taken for histological examination by the hematoxylin and eosin method, and also for histochemical examinations. Activities of acid phosphatase, adenosin triphosphatase, glucose-6-phosphatase, lipase and glycogen were detected in the liver; in the small intestine — activities of acid phosphatase and alkaline phosphatase, glucose-6-phosphatase and lipase.

The examinations showed that Bilocol, particularly after 7 days of administration, caused little variations in the enzyme activities, which could be seen by means of histochemical methods. Histological examinations did not show any damage of the liver and small intestine.

EXPLANATION TO FIGURES

Fig. 1. Acid phosphatase activities in the liver of the control rat. Gomori's method. Magn. 200X.

Fig. 2. Acid phosphatase activities in the liver of experimental group II. Gomori's method. Magn. 400X.

Fig. 3. ATP-ase activities in the liver of the control rat. Wachstein and Meisel method. Magn. 400X.

Fig. 4. ATP-ase activities in the liver of experimental group II. Wachstein and Meisel method. Magn. 400X.

Fig. 5. Glucose-6-phosphatase activities in the liver of experimental group I. Wachstein and Meisel method. Magn. 400X.

Fig. 6. Glycogen in the liver of experimental group II. McManus method. Magn. 400X.

Fig. 7. Lipase activities in the liver of the control rat. Gomori's and Takamatsu method. Magn. 400X.

Fig. 8. Lipase activities in the liver of experimental group I. Gomori's and Takamatsu method. Magn. 400X.

Fig. 9. Acid phosphatase activities in the small intestine of experimental group II. Gomori's method. Magn. 200X.

Fig. 10. Alkaline phosphatase activities in the small intestine of experimental group I. Gomori's method. Magn. 400X.

Fig. 11. Glucose-6-phosphatase activities in the small intestine of the control rat. Wachstein and Meisel method. Magn. 400X.

Fig. 12. Glucose-6-phosphatase activities in the small intestine of experimental group II. Wachstein and Meisel method. Magn. 400X.

