

Ewa Oleszczyńska-Prost

# Badania doświadczalne nad wpływem wybranych preparatów na wydzielanie płynu łzowego

## Część II: mikroskopia świetlna i elektronowa transmisyjna

### Experimental studies on the influence of different drugs on the production of tear fluid Part II: Light and transmission electron microscopy

**Summary:** In the paper the influence of ambroxol, betanecol, mesna and bromhexine hydrochloride on the morphologic appearance of the lacrimal glands in rabbits was studied with the use of light and transmission electron microscopy. The examination of the lacrimal glands in light microscopy has shown in comparison with the control group an increase in the number of secretory granules in rabbit glands after treatment with different drugs. In electron microscopy in animals, after treatment, much more prominent rough endoplasmic reticulum with a considerable distention of the cisternae and increase of the number of secretory granules in the cytoplasm of the cells were seen. The greatest stimulation of the production of tear fluid was observed after treatment with mesna. Nearly similar results were obtained after betanecol and slightly worse after ambroxol. The least potent drug was bromhexine.

Hasła: gruczoł łzowy, mikroskopia świetlna, mikroskopia elektronowa, króliki

Key words: lacrimal gland, light microscope, electron microscope, rabbits

Wykonane uprzednio badania doświadczalne wykazały, że po zastosowaniu mesny, betanecolu, ambroksolu i bromheksyny dochodzi do zwiększenia wydzielania płynu łzowego przez gruczoł łzowy. Największy efekt zaobserwowano po podaniu mesny i betanecolu. W badaniach tych do oceny wydzielania płynu łzowego użyto test Schirmera I oraz lizozymowy. W niniejszej pracy postanowiono ocenić zmiany morfologicznego gruczołu łzowego po zastosowaniu wymienionych leków.

#### Materiał i metodyka

Badania przeprowadzono na 64 oczach u 32 królików szarych o wadze 3-4 kg każdy. Zwierzęta podzielono na 8 grup doświadczalnych. Leki podawano według schematu opisanego w części pierwszej tej pracy. Gruczoł łzowy do badań w mikroskopie świetlnym i elektronowym transmisyjnym pobierano

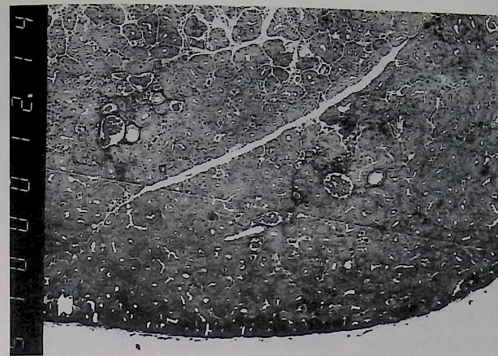
w znieczuleniu ogólnym stosując podawaną dożylnie ketaminę. W dolno-skroniowej części oczodołu nacięto spojówkę załamką i przegrodę oczodołową i odszukiwano gruczoł łzowy, który wycinano przy pomocy nożyczek. Z każdej z 8 grup badanych królików wycinki gruczołów łzowych pobierano po 7 dniowym podawaniu leków. Pobrane tkanki utrwalano w 4% buforze kakodylanowym 0,1 M o pH 7,4, następnie odwadniano w seriach alkoholowych i tlenku propylenu, oraz zatapiano w surowicy Spurr-low viscosity. Preparaty krojono na skrawki półcienkie i ultracienkie a następnie barwiono. Preparaty półcienkie oglądano w mikroskopie świetlnym zaś ultracienkie w mikroskopie elektronowym transmisyjnym.

#### Wyniki

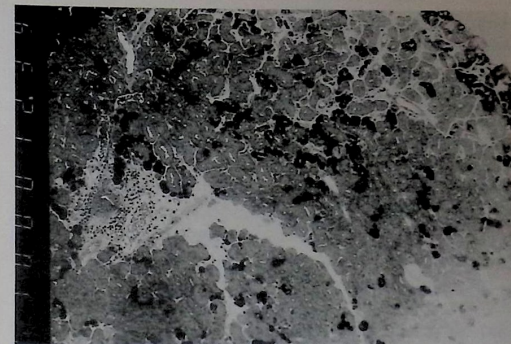
Badania gruczołów łzowych w mikroskopie świetlnym wykazały, że w porównaniu z grupą kontrolną w preparatach pochodzących od królików, u których stosowano leki, dochodziło do zwiększenia liczby ziaren wydzieliny w cytoplazmie komórek nabłonka pęcherzyków. Ziarna te były umiejscowione zazwyczaj w szczytowej części komórek lecz czasami występowały

Z Wojewódzkiego Szpitala Zespolonego w Lublinie  
Kierownik: dr med. Elżbieta Rodecka-Gustaw

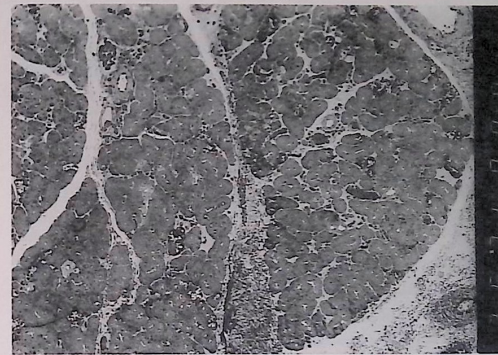
Reprint requests to:  
Dr med. Ewa Oleszczyńska-Prost  
ul. Chmielna 12 m. 6, 20-075 Lublin



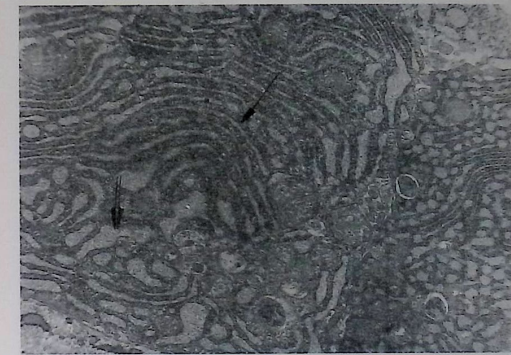
Ryc. 1. Gruczoł łzowy królika — pojedyncze ziarna wydzieliny w polu widzenia. Stopień 0. Barwienie-błękit metylenowy i azur. Pow. 50 x



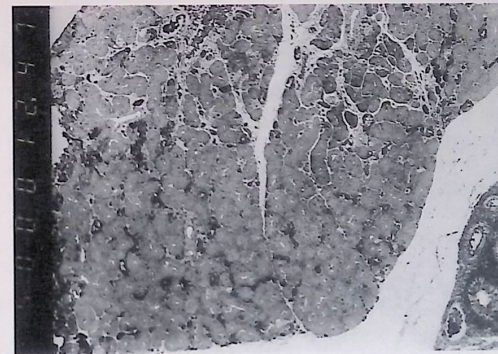
Ryc. 4. Gruczoł łzowy królika — duża liczba ziaren wydzieliny w polu widzenia — stopień 3



Ryc. 2. Gruczoł łzowy królika — niewielka liczba ziaren wydzieliny w polu widzenia. Stopień 1. Barwienie-błękit metylenowy i azur. Pow. 50 x



Ryc. 5. Gruczoł łzowy królika w grupie kontrolnej. Widoczne komórki wydzielnicze z obfitą szorstką siatką endoplazmatyczną o spłaszczonych cysternach → oraz rozdętych cysternach (⇨) MET. Pow. 15000 x



Ryc. 3. Gruczoł łzowy królika — średnia liczba ziaren wydzieliny w polu widzenia — stopień 2

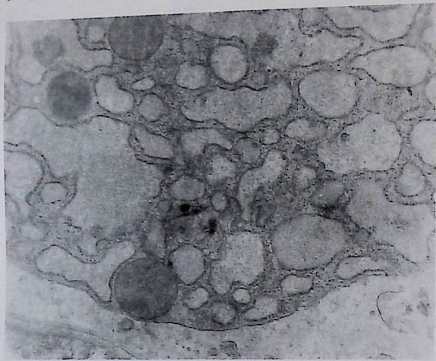
niały całą cytoplazmę. Należy zaznaczyć, że poszczególne pęcherzyki wykazywały różny stopień czynności wydzielniczej.

W zależności od liczby ziaren wydzieliny w polu widzenia mikroskopu, wyróżniono następujące stopnie wydzielania płynu łzowego.

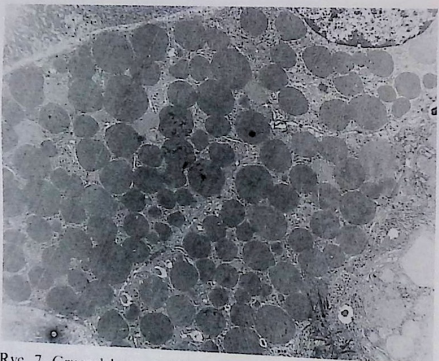
- 0 — występowanie tylko pojedynczych ziaren w polu widzenia; obserwowany w grupie kontrolnej (ryc. 1)
- 1 — niewielka liczba ziaren wydzieliny w polu widzenia; obraz stwierdzony w grupie po bromheksynie w kroplach i iniekcjach. (ryc. 2)
- 2 — średnia liczba ziaren wydzieliny w polu widzenia; zmiany tego rodzaju obserwowano po podaniu ambroksolu w kroplach i iniekcjach oraz betanecolu w iniekcjach. (ryc. 3)
- 3 — duża liczba ziaren wydzieliny w polu widzenia; po podaniu mesny i betanecolu w kroplach. (ryc. 4)

Badania preparatów w transmisyjnym mikroskopie elektronowym pozwoliły dokładniej ocenić zmiany we wnętrzu komórek nabłonka wydzielniczego przed i po podaniu leków. W preparatach grupy kontrolnej

charakterystyczną cechą komórek nabłonka była obfita szorstka siatka endoplazmatyczna o spłaszczonych cysternach oraz stosunkowo niewielka liczba ziaren wydzieliny (ryc. 5). Przeprowadzone obserwacje wykazały następujący cykl wydzielniczy w komórce: pojawienie się bardziej obfitej szorstkiej siatki endoplazmatycznej ze spłaszczonymi cysternami, postępujące rozdzielenie jej cystern, świadczące o zwiększającej się czynności wydzielniczej komórki oraz postępującą produkcję ziaren wydzieliny w cytoplazmie. Wraz ze wzrostem liczby ziaren wydzieliny dochodziło do zmniejszenia się czynności wydzielniczej komórki, czego wyrazem była mniej obfita szorstka siatka endoplazmatyczna i mniejsze rozdzielenie jej cystern.



Ryc. 6. Gruczoł łzowy królika po stymulacji mesną w kroplach. Widoczna szorstka siatka endoplazmatyczna o rozdętych cysternach oraz tworzące się w jej obrębie ziarna wydzieliny o różnej gęstości elektronowej. MET. Pow. 28000 x



Ryc. 7. Gruczoł łzowy królika po stymulacji mesną w kroplach. Widoczne bardzo liczne ziarna wydzieliny o dużej gęstości elektronowej wypełniające podstawową część komórki. MET. Pow. 7000 x

W porównaniu z grupą kontrolną w grupach zwierząt u których stosowano leki, obserwowano znacznie bardziej obfita szorstką siatkę endoplazmatyczną o rozdętych cysternach oraz znacznie większą liczbę ziaren wydzieliny w obrębie cytoplazmy (ryc. 6, 7).

Stopień czynności wydzielniczej poszczególnych pęcherzyków oraz poszczególnych komórek w obrębie pęcherzyka był tak różny, że uniemożliwiało ustalenie dokładnych kryteriów oceny działania poszczególnych leków w mikroskopii elektronicznej.

Stwierdzono jedynie, że największą stymulację wydzielania obserwowano po podaniu mesny w kroplach.

### Omówienie

Na podstawie otrzymanych wyników badań w mikroskopie świetlnym i elektronowym stwierdzono, że wszystkie cztery badane leki powodują zwiększenie wydzielania płynu łzowego. Badania wyinków gruczołów łzowych w mikroskopie świetlnym wykazały, że najsilniej działa mesna i betanechol w kroplach. Dokładna analiza preparatów w mikroskopie elektronowym, pozwoliła jedynie na stwierdzenie, że największą stymulację wydzielania obserwowano po podaniu mesny w kroplach. Badania te potwierdziły uprzednio otrzymane wyniki testu Schirmera I i lizozymowego. W wyborze leków do badań kierowano się ich właściwościami farmakologicznymi (opisanymi w I części pracy) oraz niewielkimi lub brakiem działań ubocznych. Powikłania po stosowaniu 0,2% kropli bromheksyny nie są znane<sup>5,6,7</sup>. Ambroksol, będąc jej pochodną, nie powinien także powodować miejscowych powikłań. Mesna stosowana w postaci inhalacji w 20% stężeniu może być przyczyną kaszlu z podrażnienia, który nie występował po rozcieńczeniu leku do 10%. Mesna nie była uprzednio podawana do worka spojówkowego i dlatego trudno jest ocenić jej działanie uboczne na gałkę oczną. Betanechol nie stosowany dotąd miejscowo w postaci kropli jest w swoim działaniu bardzo podobny do karbacholu. Dlatego też należy sądzić, że po jego zakropieniu może dojść do przejściowej krótkowzroczności, zwężenia źrenicy lub innych reakcji związanych z pobudzeniem układu nerwowego parasympatycznego<sup>7</sup>. W związku z tym wydaje się, że betanechol będzie najgorzej tolerowany przez chorych.

Podsumowując otrzymane wyniki należy stwierdzić, że do dłuższego stosowania najlepiej nadają się leki w postaci kropli, przede wszystkim mesna, a także ambroksol i następnie betanechol.

Stymulatory wydzielania łez mogłyby znaleźć zastosowanie przede wszystkim u chorych z częściowo zachowaną produkcją łez<sup>2,8</sup>. Leki te powinny stanowić wartościowe uzupełnienie stosowanych metod leczenia za pomocą substytutów łez oraz zamknięcia punktów łzowych<sup>1,4</sup>.

Wyniki przedstawionych badań doświadczalnych wskazują na celowość podjęcia badań klinicznych nad możliwością zastosowania mesny, a także ambroksolu i betanecholu jako stymulatorów wydzielania płynu łzowego u chorych z zespołem suchego oka.

### Piśmiennictwo

1. Bron A.J.: Prospects for the dry eye. Duke-Elder Lecture. Trans. Ophthal. Soc. UK. 104: 801-826 (1985). — 2. Frost-Larsen K., Isager H., Manthorpe R.: Sjögren's syndrome treated with bromhexine: a randomized clinical study. Brit. Med. J. 1: 1579-1581 (1978). — 3. Grosse-Ruyken F.J.: Über eine Behandlungsmöglichkeit der Conjunctivitis sicca und des Mb. Sjögren miteinem sekretoliticum. Klin. Mbl. Augenhk. 162: 535-539 (1973). — 4. Lemp M.A.: Recent developments in dry eye management. Ophthalmology 94: 1299-1304 (1987). — 5. Oleszczyńska-Prost E.: Badania doświadczalne nad wpływem chlorowodoru brom-

heksyny na wydzielanie płynu łzowego. Klin. Oczna 93: 3-4 (1991). — 6. Scharf J.M., Obedeau N., Meshulam T., Nahir M., Merzbach D., Scharf J.A., Zonis S.: influence of bromhexine on tear lysozyme level in keratoconjunctivitis sicca. Amer. J. Ophthal. 92: 21-23 (1981). — 7. Taylor P.: Cholinergic agonists. w: Goodman and Gilman's: The pharmacological basis of therapeutics. (Macmillan Publishing CO, New York 1980) rozdz. 5, str. 91-92. — 8. Tiburtius H., Merker H.J.: Über eine Behnadlungsmöglichkeit der herabgesetzten Tränenproduktion. Klin. Mbl. Augenhk. 162: 535-539 (1973).

Praca wpłynęła: 29.11.1993



**te lasery nie mają sobie równych !**

- absolutnie bezpieczne – ze stałym filtrem
- dające światło zielone, żółte, czerwone
- jedyny na świecie laser Yagowy bez Q switcha (plamka <4 mikrony, prowadzenie promienia poprzez mikroskop Leica)
- waga od 17 kg
- moc do 8 W pure green, 100 000 W/cm<sup>2</sup>
- wszystkie w technologii EDO
- ceny już od 23 000 \$

**TOMEY**

FAKOEMULSYFIKATORY

USG

APARATY DO TOPOGRAFII ROGÓWKI

SOCZEWKI WEWNĄTRZGAŁKOWE

IMPLANTY



Reprezentantem na terenie Polski jest:

ul. Królowej Jadwigi 37b/7, 30-209 Kraków  
tel.: (0 12) 21 58 10, 21 63 91, 22 86 51; fax: (0 12) 21 71 46

**C.X. CONSULTRONIX**  
LASERS