

STANISŁAW ZIAREK, ST. SZYSZKO, ST. NOWAK, Z. DĄBROWSKI

WPLYW PODAWANIA PREPARATÓW KORY NADNERCZA NA POZIOM γ -GLOBULIN W SUROWICY KRWI KRÓLIKA

Z I Kliniki Chirurgicznej Śląskiej A. M. w Zabrze
Kierownik: doc. dr St. Szyszko

Preparaty kory nadnercza zdaniem wielu autorów odgrywają znaczną rolę w procesach odpornościowych zarówno w warunkach doświadczalnych jak i w klinice [4, 5, 14]. Aczkolwiek istnieją znaczne różnice w poglądach naświetlających to zagadnienie, większość badaczy stoi na stanowisku, że preparaty te zmniejszają siły obronne ustroju [2, 3, 13, 17]. Mechanizm działania tych środków nie jest jeszcze zupełnie poznany. Wydaje się jednak, że jest on uzależniony od zmian składu białek ustrojowych, najprawdopodobniej frakcji γ -globulinowej będącej „nośnikiem” ciał odpornościowych [16, 18]. Wpływ preparatów kory nadnercza w zjawiskach immunologicznych zaznacza się również w ich oddziaływaniu na przemianę żelaza, którego niedobór stoi być może w pewnym związku przyczynowym ze zmniejszeniem się odporności ustroju [11].

Wobec istniejących różnic w poglądach poszczególnych autorów co do wpływu preparatów kory nadnercza na przemianę białkową — ściśle zresztą włączoną w łańcuch reakcji odpornościowych — postanowiliśmy w naszej pracy zająć się tym właśnie problemem, śledząc zmiany zachodzące we frakcji γ -globulinowej; przyjmuje się bowiem powszechnie, że albuminy i frakcja włóknikородna nie wywierają wpływu na tworzenie się przeciwciał [29, 37]. W naszych rozważaniach wychodziliśmy z założenia, że jeżeli wpływ preparatów kory nadnercza w procesach odpornościowych jest istotny, to podanie ich zwierzętom doświadczalnym powinno w sposób zasadniczy wpłynąć na procentowy skład białek surowicy, a wyraźne obniżenie się poziomu γ -globulin stwierdzone po ich podaniu, przemawiałoby z pewnym prawdopodobieństwem za zmniejszeniem się sił odpornościowych badanego ustroju.

METODYKA

Badania przeprowadziliśmy na królikach, dobrze odżywionych młodych mieszańcach, płci obojga, wagi od 2—4 kg. Wybraliśmy do doświadczeń króliki ze względu na ich przynależność do grupy zwierząt wrażliwych na preparaty kory nadnercza [15]. Przed rozpoczęciem doświadczenia każdemu królikowi pobierano 8 ml krwi z żyły usznej po uprzednim znieczuleniu i nacięciu skóry nad nią. Krew tę określamy w dalszym ciągu pracy nazwą krwi „kontrolnej”. W podobny sposób pobieraliśmy krew po ukończeniu podawania preparatów kory nadnercza. Po pobraniu krwi krwawienie z przeciętej żyły tamowano kilkuminutowym uciskiem. Pobrąną krew odwirowywano, a w uzyskanej surowicy oznaczano ogólną ilość białka metodą biuretową, odczytując wyniki na fotometrze Pulfricha, przy użyciu filtru S 53. Rozdziału frakcji białek dokonywano metodą elektroforezy bibułowej przy pomocy aparatu polskiej produkcji BE₁—5, używając 5% roztworu weronalu. Paski bibuły chromatograficznej Whatman 1 barwiono alkoholowym roztworem błękitu bromofenolowego, eluując je następnie 0,5% wodorotlenkiem sodu. Wyniki oznaczenia poszczególnych frakcji białkowych odczytywano za pomocą fotometru Pulfricha przy użyciu filtru S 50.

Każdy królik był ważony przed rozpoczęciem doświadczenia, następnie codziennie o tej samej porze przez okres 20 dni. Wszystkie zwierzęta karmiono w czasie badań regularnie 3 razy dziennie.

Z preparatów kory nadnercza podawano domięśniowo octan kortyzonu (cortisone acetate—Merck) w jednorazowych stopniowo wzrastających dawkach dziennych. W dniu rozpoczęcia doświadczenia wstrzykiwano królikowi 5 mg, drugiego dnia 8 mg, następnie kolejno codziennie po: 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 22 mg kortyzonu. Preparat podawano do tylnych mięśni uda po uprzednim ogoleniu i wyjałowieniu skóry tej okolicy. Dwie godziny po wstrzyknięciu ostatniej dawki preparatu pobieraliśmy krew do badań końcowych. Po ukończeniu doświadczenia kortyzon odstawiano stopniowo przez okres następnych 5 dni (18, 15, 12, 8, 5 mg).

10 zwierząt poświęciliśmy dla przebadania zmian makroskopowych zachodzących w ich tkance tłuszczowej i mięśniach po podawaniu kortyzonu.

WYNIKI

Wszystkie zwierzęta dobrze zniosły doświadczenie. Żadne z nich nie padło. W czasie wstrzykiwania kortyzonu zachowywały się one spokojnie, a po wykonanych iniekcjach nie stwierdzono w żadnym przypadku ujemnych odczynów miejscowych. W okresie 4—5 dni po rozpoczęciu podawania preparatów kory nadnercza odżywiały się one prawidłowo. Przeciętnie 5 dnia zwierzęta stawały się apatyczne, mało ruchliwe, a sierść ich wykazywała tendencję do wypadania. W tym czasie waga badanych zwierząt wyraźnie zmniejszała się.

Proteinogramy surowicy poszczególnych królików uzyskane w 10. dniu stosowania kortyzonu są dość charakterystyczne. W każdym przypadku zaznaczył się spadek ogólnej zawartości białka surowicy krwi o 0,3—0,9 g% w porównaniu z analogicznymi wartościami kontrolnymi. I tak, gdy ogólny poziom białka w surowicy krwi wszystkich poszczególnych zwierząt przed

podaniem preparatu kory nadnercza wahał się w granicach od 6,0 g⁰/o do 7,2 g⁰/o, to po podawaniu kortyzonu wynosił on 5,6 g⁰/o—6,5 g⁰/o. Odchylenie przeciętne (obliczone wg wzoru podanego przez *Krupińskiego* i *Gorzela*) dla ogólnej ilości białka w surowicy zwierząt przed podawaniem kortyzonu równało się 0,245 g⁰/o, a po ukończeniu doświadczenia — 0,230 g⁰/o.

Zarówno poziom odsetkowy jak i bezwzględny albumin podnosił się w każdym przypadku; mianowicie, gdy początkowy ich odsetek w surowicy krwi kontrolnej wahał się w granicach 23⁰/o—50⁰/o (co odpowiadało 1,5 g⁰/o—3,25 g⁰/o ogólnej zawartości białka) wówczas po podaniu preparatów kory nadnercza poziom ich zwiększał się, dochodząc do 41,4⁰/o—69,8⁰/o (2,4 g⁰/o—4,0 g⁰/o), a więc był znacznie wyższy od poziomu w krwi kontrolnej. Odchylenia przeciętne dla procentowego składu albumin przed i po podaniu kortyzonu wynosiło: 4,75⁰/o—4,83⁰/o.

Procentowy skład wszystkich globulin zmniejszał się znacznie w czasie podawania preparatu kory nadnerczy, dochodząc nawet w 2 przypadkach (królik Nr 8 i 9) do połowy wartości kontrolnych. Gdy w krwi kontrolnej poszczególnych królików procent wszystkich globulin razem wziętych wahał się od 50⁰/o do 78⁰/o ogólnej zawartości białka (3,25 g⁰/o—5,2 g⁰/o, wówczas po ukończeniu doświadczenia odnośne wartości obniżały się do 30,2⁰/o—58,6⁰/o (1,7 g⁰/o—3,5 g⁰/o). Frakcja α -globulinowa wykazywała w większości przypadków tendencję do obniżania się, aczkolwiek u 8 królików spostrzegliśmy nieznaczne podwyższenie się ich poziomu w krwi zwierząt po stosowaniu preparatów kory nadnercza.

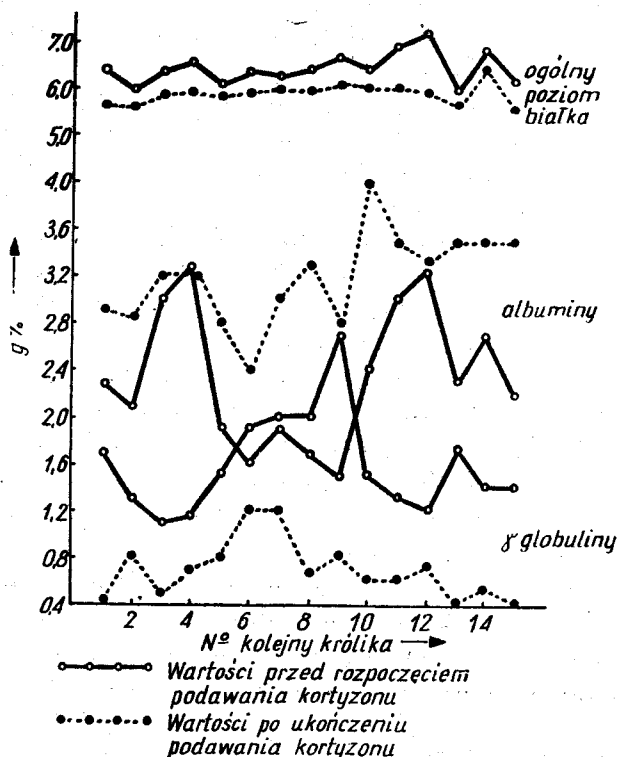
Podobnie jak α_1 -globuliny, zachowywały się α_2 i β -globuliny z tą różnicą, że we frakcji α_2 -globulinowej stwierdzono obniżenie względnie utrzymanie się ich wyjściowego poziomu w surowicy w 8 przypadkach, a we frakcji β -globulinowej obniżenie się poziomu w surowicy w 4 przypadkach.

Bardzo istotne były różnice spostrzegane we frakcji γ -globulinowej. Podczas, gdy poziom γ -globulin w surowicy przed podawaniem kortyzonu wahał się od 16,6⁰/o do 38,9⁰/o (co odpowiadało 1,1—2,7 g⁰/o ogólnej ilości białka) to w surowicy krwi pobranej po 10 dniach podawania preparatu mieściły się one w granicach 6,7⁰/o—20,0⁰/o (0,4 g⁰/o—1,2 g⁰/o). Odchylenie przeciętne (standartowe) dla odsetka γ -globulin przed podawaniem kortyzonu wynosiło: 4,8⁰/o — po ukończeniu jego podawania 3,2⁰/o.

Jak wynika z powyższych danych poziom γ -globulin w surowicy obniżał się znacznie w warunkach podawania kortyzonu, dochodząc w kilku przypadkach (królik Nr 9, 13, 15) do poziomu 3-krotnie niższego od poziomu początkowego. Dokładniejsze dane dotyczące zawartości poszczególnych frakcji białkowych i ogólnego poziomu białka w surowicy krwi badanych zwierząt przed i po podaniu preparatu kory nadnercza podajemy w ryc. 1.

Ryc. 2 przedstawia proteinogram surowicy krwi przed podaniem kortyzonu i pobranej po ukończeniu jego podawania królikowi Nr 5.

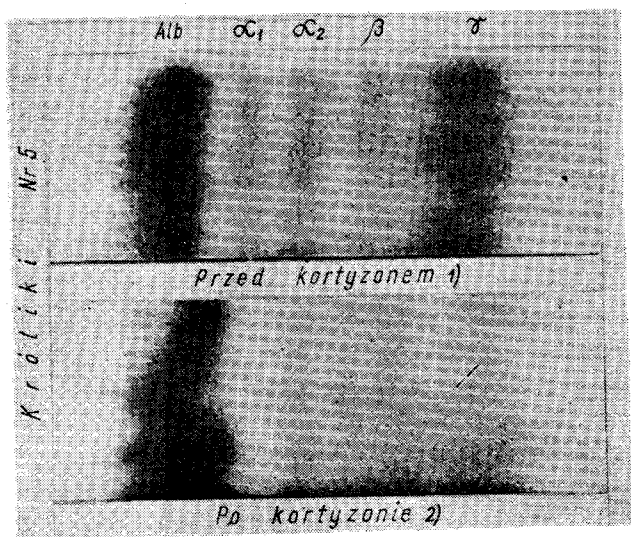
U zwierząt, które otrzymywały preparat kory nadnercza spostrzegano spadek wagi ciała notowany już w 3 lub 4 dniu po rozpoczęciu jego podawania. W 8—10 dniu utrata wagi dochodziła do 200—400 g. U kilku



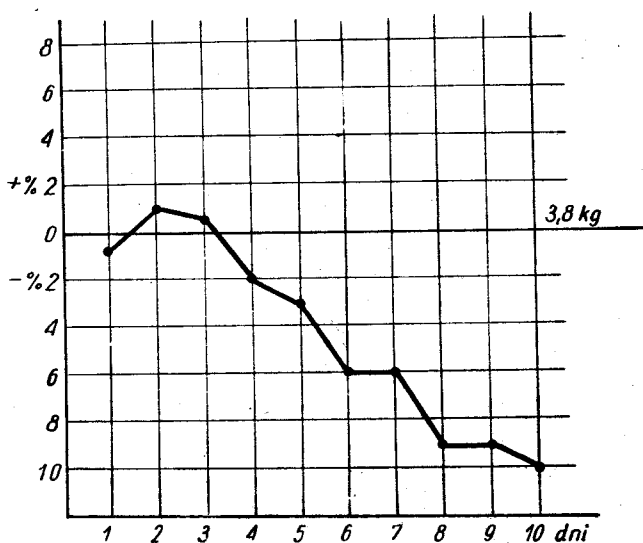
Ryc. 1. Wykres ogólnej zawartości białka, albumin i γ -globulin w surowicy królików (od nr 1—15) przed i po podaniu kortyzonu.

Fig. 1. Changes in the total content of proteins, albumins and γ -globulins in the blood serum of rabbits after injection of cortisone.

królików zaznaczył się przyrost wagi w czasie 3 pierwszych dni podawania preparatów kory nadnercza, w następnych jej spadek dochodził do wartości wspomnianych powyżej. Po zaprzestaniu podawania kortyzonu waga królików stopniowo zwiększała się, dochodząc po kilku dniach do wartości wyjściowej. Ryc. 3 przedstawia krzywą obrazującą wpływ kortyzonu na wagę królika Nr 13.



Ryc. 2. Przed kortyzonem 1). Po kortyzonie 2).
 Fig. 2. Before cortisone 1). After cortisone 2).



Ryc. 3. Spadek wagi u królika nr 13 po podaniu kortyzonu.
 Fig. 3. Decrease in the wight of rabbit N° 13 after the cortisone injection.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Uzyskane wyniki świadczą o znacznym obniżeniu się zawartości γ -globulin w surowicy, stwierdzonym po kilkudniowym podawaniu kortyzonu w warunkach doświadczenia. Obniżenie się tej zawartości było znaczniejsze niż spadek ogólnego białka i frakcji α_1 , α_2 i β -globulinowych w surowicy krwi. Jak wspomnieliśmy powyżej γ -globuliny zdają się odgrywać ważną rolę w procesach immunologicznych, dlatego też możnaby przypuszczać, że obniżenie się ich poziomu w surowicy w następstwie podawania kortyzonu może świadczyć o ujemnym wpływie tego środka na odporność badanych zwierząt.

Wyniki nasze rozpatrywane w łączności z wynikami innych autorów potwierdzają możliwość blokowania układu siateczkowo-śródbłonkowego głównie węzłów chłonnych, grasicy i śledziony przez preparaty kory nadnercza [1, 2, 9]. Blokowanie to spowodowane jest przypuszczalnie działaniem cytotoksycznym i antymitotycznym tych środków na komórki siateczki, barwiące się pyroniną (cell germinal follicles) [6], które mają brać udział w produkcji γ -globulin i syntezie białek przeciwciał [7, 8, 10]. Tu leży, być może, przyczyna obniżania się poziomu γ -globulin w następstwie podawania kortyzonu, które to zjawisko zostało stwierdzone w prowadzonych przez nas badaniach doświadczalnych.

Jak wynika z ryc. 1, przeciwnie do γ -globulin zachowywał się skład procentowy i bezwzględna zawartość albumin. Wartości te wzrastały dość znacznie w każdym przypadku w czasie podawania kortyzonu. Zjawisko to tłumaczyliśmy, zgodnie z badaniami *Benetato* i wsp., przerostem komórek wątrobowych i zwiększeniem się procesów syntezy tych białek w wątrobie w następstwie podawania preparatów kory nadnercza.

W czasie pośmiertnego badania królików, które otrzymywały kortyzon, stwierdzono zanik mięśni grzbietu i kończyn oraz podskórnej tkanki tłuszczowej.

Wypadanie włosów królików w czasie doświadczenia przemawiać mogłoby za względną niedomogą kory nadnercza w okresie podawania kortyzonu zwierzętom doświadczalnym.

Powyższe dane przemawiają niedwuznacznie za istotnym wpływem preparatów kory nadnercza na toczące się przemiany białkowe w ustroju, a tym ich przypuszczalnym oddziaływaniem na procesy odpornościowe, być może, przez zahamowanie tworzenia się γ -globulin w u. s. ś. Jeśli przyjmowana przez licznych autorów — zależność procesów odpornościowych od przemiany białkowej i składu białka ustrojowego rzeczywiście istnieje — wówczas znaczne obniżenie się poziomu γ -globulin w krwi obwodowej badanych zwierząt mogłoby być równoznaczne ze zmniejszeniem się ich odporności ogólnej i miejscowej.

Podkreślając wszelkie zastrzeżenia i konieczność wielkiej ostrożności w przenoszeniu wyników uzyskanych u zwierząt doświadczalnych na człowieka, badania nasze zdają się przemawiać za niekorzystnym wpływem podawania preparatów kory nadnercza na ogólną i miejscową odporność chorych, leczonych przez czas dłuższy tymi preparatami. Przemawiają za tym również niektóre spostrzeżenia kliniczne [40].

WNIOSKI

W oparciu o uzyskane wyniki dochodzimy do następujących wniosków:

1. Preparaty kory nadnercza podawane domięśniowo zmniejszają w znacznym stopniu poziom γ -globulin w surowicy krwi badanych królików.

2. Spadek poziomu γ -globulin w surowicy krwi królików, spostrzegany po podawaniu kortyzonu jest znacznie większy niż spadek ogólnej zawartości białka.

3. Podawanie kortyzonu zwiększa ilość albumin w surowicy krwi badanych zwierząt.

4. Dość duży spadek wagi zwierząt doświadczalnych, jest zjawiskiem stałym przy podawaniu preparatów kory nadnercza przez dłuższy okres czasu.

Г. Зярэк, С. Шишко, С. Новак, З. Домбровски

ВЛИЯНИЕ ВВЕДЕНИЯ ПРЕПАРАТОВ КОРЫ НАДПОЧЕЧНИКА НА УРОВЕНЬ ГАММА-ГЛОБУЛИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРОЛИКОВ

Содержание

Авторы исследовали влияние кортизона на уровень гамма-глобулинов в сыворотке 30 кроликов. В течение эксперимента они констатировали снижение уровня γ -глобулинов в значительно большей степени, чем снижение общего содержания белка и остальных глобулиновых фракций. Падение уровня γ -глобулинов, являющихся, по мнению авторов, результатом блокады ретикуло-эндотелиальной системы, сопровождалось повышением абсолютного и процентного уровня альбуминов. Это явление авторы объясняют благоприятным влиянием препаратов коры надпочечника на клетку печени. Снижение уровня γ -глобулинов, появляющееся после введения кортизона, находится, повидимому, в известной причинной связи с уменьшением общего и местного иммунитета, наблюдаемым также в клинических случаях. Значительные перемещения в области белков крови, а также потеря веса, констатируемые после подачи кортизона, повидимому, свидетельствуют о косвенном влиянии этого лечебного средства на процессы обмена веществ в организме кролика.

S. Ziarek, S. Szyszko, S. Nowak, Z. Dąbrowski

THE EFFECT OF ADRENAL CORTEX PREPARATIONS
ON THE LEVEL OF GRAMMA-GLOBULINS IN THE SERUM OF A RABBIT

Summary

The effect of cortisone on the level of serum gamma-globulins was investigated in 30 rabbits. The level of gamma-globulins was depressed much more than that of total proteins and the remaining globulin fractions.

The decrease of gamma-globulins, attributed by the authors to a blocking of the reticulo-endothelial system, was attended by an increase in the absolute and percentage level of albumins, which the authors ascribed to a beneficial effect of adrenal cortex preparations on liver cells. The decreased level of gamma-globulins after cortisone seems to be causally related with a diminished general and local resistance, also noted in clinical cases.

Considerable changes in the levels of blood proteins and loss of weight after cortisone seem also to suggest for the drug an indirect effect on metabolic processes in rabbits.

PIŚMIENNICTWO

1. Alperi C. cyt. wg Gastinel'a.
2. Benetato Gr., Baciu I., Cucuianu M.: Patolog. Fizjol. Eksp. Terapia. 1958, 2, 5, 11.
3. Bjornboe M., Fischel E. E., Stoerk H. C.: J. Exp. Med., 1951, 93, 37.
4. Chase J. H., White A., Dougherty T. F.: J. Immunol., 1946, 52, 101.
5. Clavson B., Nerenberg S.: J. Lab. Clin. Med., 1953, 42, 746.
6. Craig J. M.: Am. J. Path., 1952, 28, 4, 625.
7. Dougherty T. F., Chase J. H., White A.: Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 1944, 57, 295.
8. Ehrich W. E., Harris T. N.: J. Exper. Med. 1942, 76, 335.
9. Gastinel P., Fasquelle R., Barbier P.: „Elements d'immunologie générale”. Paris 1955.
10. Harris T. M., Harris S.: J. Exper. Med., 1949, 90, 169.
11. Henne H. F.: Langenbecks Arch. Klin. Chir., 1960, 294, 4, 299.
12. Krupiński J., Gorzelak E.: Statystyka w służbie zdrowia. Warszawa, 1957.
13. Moeschlin S., Baguena R., Baguena J.: Int. Arch. Allergy, 1953, 4, 83.
14. Salvidio E., Rossi V.: „Effect of cortisone on the influence of auto-antibodies on erythrocyte enzymes”. Acta Haematol., 1959, 22, 5, 286.
15. Shewel J., Long D. A.: J. Hyg. 1956, 54, 4, 452.
16. Scheiffart F., Schuler E., Berg G.: Dstch. Med. Wschr., 1956, 81, 28, 1113.
17. Tillotson F. W.: A. M. A. Arch. Path., 1951, 52, 119.
18. Walawski J.: Fiziologia Patologiczna. Część ogólna. Warszawa, 1953.
19. Ziarek S., Sawaryn T.: Powikłania po zastosowaniu preparatów kory nadnercza w klinice chirurgicznej w świetle przypadków własnych (przyjęte do druku w Polskim Przeglądzie Chirurgicznym).

Otrzymano: 27. XII. 1960.

Adres autorów: Zabrze, I Klinika Chirurgiczna Śląskiej Ak. Med.