

Agnieszka Sutkowska

Zmiany w obrazie krwi obwodowej myszy wywołane działaniem Diazepamu*

Streszczenie

Badano wpływ Diazepamu, leku psychotropowego należącego do ataraktyków z grupy benzodiazepin, na obraz krwi obwodowej myszy.

W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono wzrost liczby erytrocytów i zawartości hemoglobiny oraz spadek wartości wskaźnika hematokrytowego. Jednocześnie zanotowano wzrost ogólnej liczby leukocytów, a także liczby neutrofilów oraz spadek liczby limfocytów w krwi obwodowej. Długotrwałe stosowanie Diazepamu wywołuje zmiany w obrazie krwi obwodowej myszy.

WSTĘP

Leki psychotropowe są szeroko rozpowszechnione i często stosowane w chorobach psychicznych i zaburzeniach typu nerwicowego. Mają zastosowanie w medycynie ogólnej i anestezjologii ze względu na działanie ogólnoznieczulające i miorelaksacyjne (Blackwell, 1973; Skegg, Richards, Doll, 1979).

Spośród wielu leków psychotropowych na uwagę zasługuje Diazepam należący do ataraktyków z grupy benzodiazepin. W wyniku dotychczasowych prac ustalono, że anatomicznymi punktami uchwytu dla benzodiazepin są: część

* Praca wykonana w Zakładzie Fizjologii Zwierząt WSP w Krakowie.

czołowa i ciemieniowa kory mózgowej, hipokamp, kora mózdzku, podwzgórze, siatkówka; w mniejszym stopniu układ pozapiramidowy, most, rdzeń przedłużony i rdzeń kręgowy (Jaroszyński, 1970; Dąbrowski, Welbel, 1974, Kostowski, Pużyński, 1980; Garish, Smyder, 1980; Janicki, Rewerski, 1981).

Przeprowadzone analizy biochemiczne wykazały, że jednostką receptorową dla benzodiazepin jest białko o ciężarze właściwym większym od 200 tysięcy daltonów, zachowujące swe właściwości w formie rozpuszczonej (Vetulani, 1969; Moehlel, Okada, 1977; Janicki, 1981; Rewerski, Janicki, 1982).

Neurologiczny mechanizm działania leków tej grupy łączy się ze zwiększeniem hamowania w obrębie aferentnych dróg prioprioreceptywnych i eksteroreceptywnych (Kubikowski, 1979; Janicki, 1981). Wiąże się on z oddziaływaniem na substancje neuroprzebieżnikowe. Ustalono, że sedatywne i nasenne działanie benzodiazepin wynika z zapobiegania wzrostowi obrotu noradrenaliny (NA) oraz obniżania poziomu dopaminy (DA). Działanie przeciwlękowe wiąże się z hamowaniem obrotu 5-hydrokсыtryptaminy (5-HT) (Nutt, 1987). Ustalono, że reakcje lękowe nasilane są przez hormon adrenokortykotropowy (ACTH) przysadki mózgowej. Przypuszcza się, że Diazepam łagodzi lękowe działanie ACTH.

Pierwotny mechanizm działania benzodiazepin wiąże się prawdopodobnie z przekaznictwem w neuronach GABA-ergicznych, powodując nasilenie ich działania. Leki te działają na swoiste struktury receptorowe, zlokalizowane w błonach synaptosomów, hamujące działanie GABA na inne typy neuronów (Blockwell, 1973; Janicki, Rewerski 1981; Welbel, 1984; Gonsloves, 1987).

Badania farmakologiczne koncentrują się głównie na wpływie Diazepamu na ośrodkowy układ nerwowy. Z dotychczasowych doniesień wynika, że niewiele jest danych na temat wpływu tego leku na obraz krwi obwodowej. Wiadomo jednak, że nie jest on pozbawiony ubocznego, szkodliwego dla zdrowia, działania. Stąd długotrwałe stosowanie Diazepamu może prowadzić do uszkodzenia nerek, wątroby i szpiku (Maj, 1985; Chodera, Mroziakiewicz, 1986). Dane te skłaniają do zastanowienia się nad mechanizmem szkodliwego działania benzodiazepin na układ krwiotwórczy, a także szczegółowego przeanalizowania sygnalizowanych zmian.

Wychodząc z tych przesłanek podjęto próbę wykazania, czy Diazepam podawany w dawkach jednorazowych i chronicznych przez 7, 14 i 21 dni wpływa na układ czerwokrwiński i białokrwiński oraz jaki charakter mają ewentualne zmiany.

MATERIAŁ I METODYKA

Celem wykazania, czy Diazepam powoduje zmiany w obrazie krwi obwodowej, przeprowadzono badania układu czerwono- i białokrwińskiego. Dokonano analizy zmian liczby erytrocytów, zawartości hemoglobiny, wartości wskaźników hematologicznych, a także ogólnej liczby leukocytów oraz procentowego składu poszczególnych rodzajów krwinek białych. Badania prowadzono na myszach. Krew do badań pobierano z żyły ogonowej. Diazepam podawano w formie iniekcji domięśniowych, w dawkach 0,5 mg/kg ciała. Zwierzęta podzielono na 5 grup doświadczalnych; każda grupa składała się z pięciu samic i pięciu samców. Zwierzętom pierwszej i drugiej grupy podawano jednorazowe dawki Diazepamu. Parametry hematologiczne oznaczano w serii kontrolnej (przed podaniem leku) oraz po 24 godzinach, a następnie po 48 godzinach po iniekcji. Zwierzętom grupy trzeciej, czwartej i piątej podawano Diazepam przez 7, 14 i 21 dni. Badania hematologiczne przeprowadzono w serii kontrolnej (przed podaniem Diazepamu) oraz po upływie 24 godzin od zakończenia iniekcji (seria iniekcyjna badań), a następnie w piątym dniu po serii iniekcyjnej (seria poiniekcyjna badań). Badania hematologiczne wykonano według metodyki podanej przez Krawczyńskiego i Osińskiego (1967).

Uzyskane wyniki opracowano statystycznie obliczając średnią arytmetyczną i odchylenie standardowe. Do analizy wyników zastosowano test "t" Studenta-Gosseta.

WYNIKI

Analizując uzyskane wyniki badań stwierdzono zmiany w obrazie krwi obwodowej myszy wywołane działaniem Diazepamu.

W obrębie układu czerwokrwinkowego zmiany dotyczyły liczby erytrocytów, zawartości hemoglobiny, wskaźnika hematokrytowego. Obserwowano wzrost liczby erytrocytów w serii iniekcyjnej w stosunku do serii kontrolnej, a następnie spadek w serii poiniekcyjnej. Szczególnie widoczne były różnice w przypadku stosowania dawek chronicznych przez 14 i 21 dni (ryc. 1). Jednocześnie stwierdzono wzrost zawartości hemoglobiny u zwierząt, którym podawano Diazepam zarówno jednorazowo, jak i chronicznie (ryc. 2). Różnice stawały się coraz bardziej widoczne w miarę wydłużania się serii iniekcyjnych. Spadek wartości hematokrytu obserwowano w przypadku jednorazowej i chronicznej podaży Diazepamu (ryc.3).

Przeprowadzone badania wykazały, że podawanie Diazepamu może prowadzić do wystąpienia leukocytozy. Znaczny wzrost ogólnej liczby leukocytów w serii iniekcyjnej w stosunku do serii kontrolnej, a następnie spadek w serii poiniekcyjnej (ryc. 4) obserwowano zarówno w przypadku dawek jednorazowych, jak i chronicznych.

Analizując skład procentowy krwinek białych obserwowano przeważnie wzrost liczby granulocytów obojętnochłonnych (ryc. 5) oraz spadek liczby limfocytów (ryc. 6). Liczba pozostałych rodzajów krwinek białych, a więc granulocytów obojętnochłonnych o jądrach pałeczkowatych, granulocytów zasadochłonnych i kwasochłonnych oraz monocytów, również ulega zmianom, przy czym brak wyraźnych tendencji wzrostowych lub spadkowych. Zmiany te są w przeważającej liczbie przypadków statystycznie nieistotne.

DYSKUSJA

W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono zmiany zarówno w układzie czerwono-, jak i białokrwinkowym. Obserwowano nasilenie się zmian w miarę wydłużania serii iniekcyjnych oraz większą reaktywność samców

niż samic w obrębie grup eksperymentalnych. Zwiększona reaktywność samców może wynikać z mniejszej niż u samic odporności na stres, wywołany w tym przypadku podaniem leku.

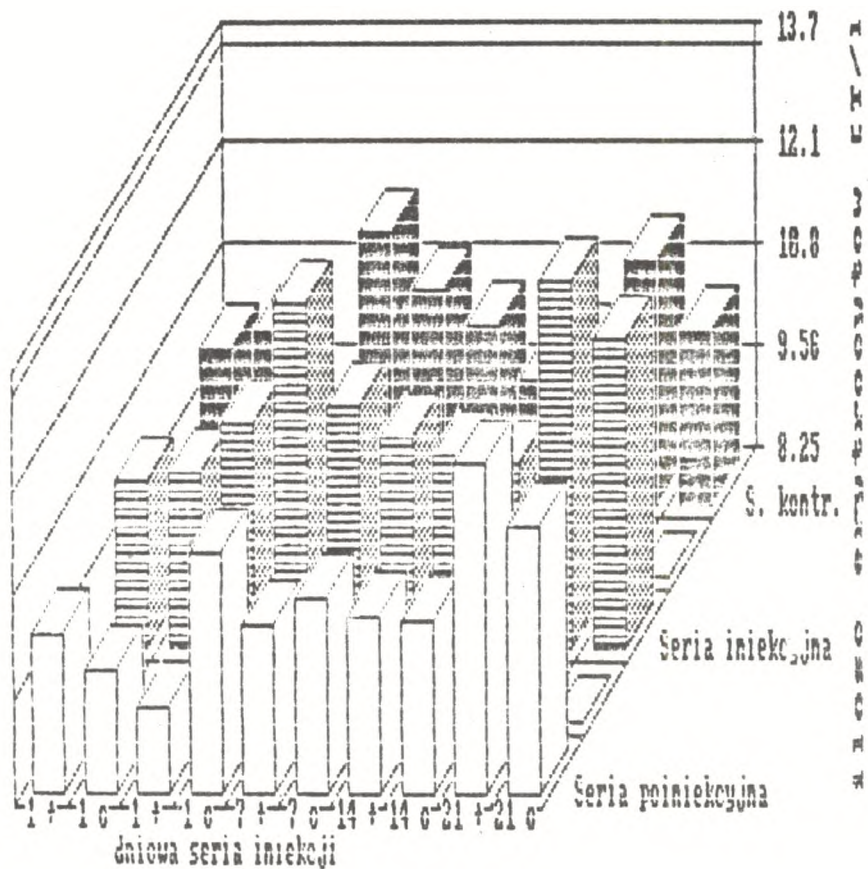
Obserwowany wzrost liczby erytrocytów wiąże się prawdopodobnie z niedotlenieniem organizmu będącym jednym z ubocznych efektów działania Diazepamu (Janicki, Rewerski 1981). Ponadto Ławkowiczowie (1965) zwracają uwagę na przypadki erytrocytozy zależne od upośledzenia czynności osrodek oddechowego, co prowadzi do hipowentylacji pęcherzyków płucnych. Stany takie mogą przebiegać w niektórych schorzeniach podwzgórza. Nie jest więc wykluczone, że Diazepam, mający punkt uchwytu m.in. w podwzgórzu, właśnie tą drogą wpływa na podniesienie liczby erytrocytów. Jurczyk, Dyaczyńska-German, 1985; Janicki, Rewerski, 1981, zaznaczają, że długotrwałe stosowanie Diazepamu może doprowadzić do uszkodzenia szpiku. Nie jest jednak pewne, czy serie iniekcyjne 14- czy 21-dniowe mogą doprowadzić do uszkodzenia układu krwiotwórczego.

Wraz ze wzrostem liczby erytrocytów obserwowano także wzrost poziomu hemoglobiny. Może to być uzasadnione zwiększeniem liczby erytrocytów lub też mieć nieco inne podłoże. W przypadku podawania Diazepamu należy liczyć się z zaburzeniami w procesie syntezy hemoglobiny, związanymi ze zwiększeniem ilości aktywnej erytropoetyny w osoczu krwi. Wykazano bowiem, że w niektórych przypadkach wzrost aktywności erytropoetyny wiąże się z podrażnieniem podwzgórza (Ławkowiczowie, 1965).

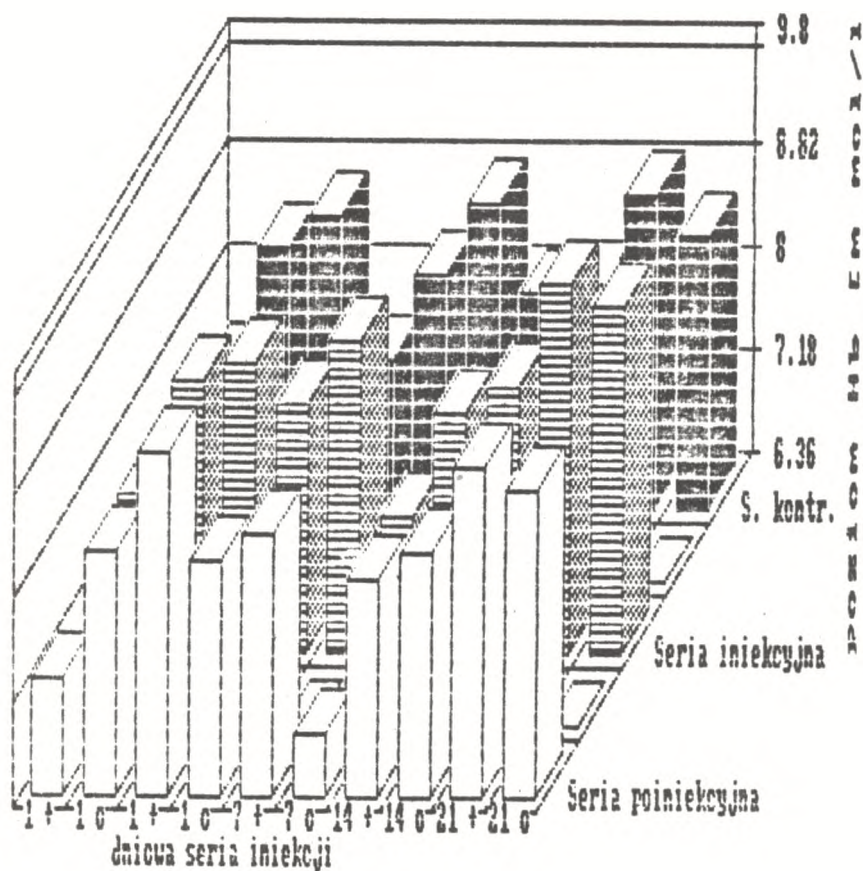
Spadek wartości hematokrytu można tłumaczyć zwiększeniem uwodnienia krwi oraz spadkiem średniej objętości krwinek.

Zmiany w układzie białokrwinkowym dotyczyły głównie ogólnej liczby leukocytów oraz procentowej zawartości neutrofilów i limfocytów. Liczba białych ciałek krwi zależy od wielu czynników, w tym od obrotu substancji neuroprzebieżnikowych, czynników emocjonalnych i prawdopodobnie podwzgórza (Ławkowiczowie, 1965).

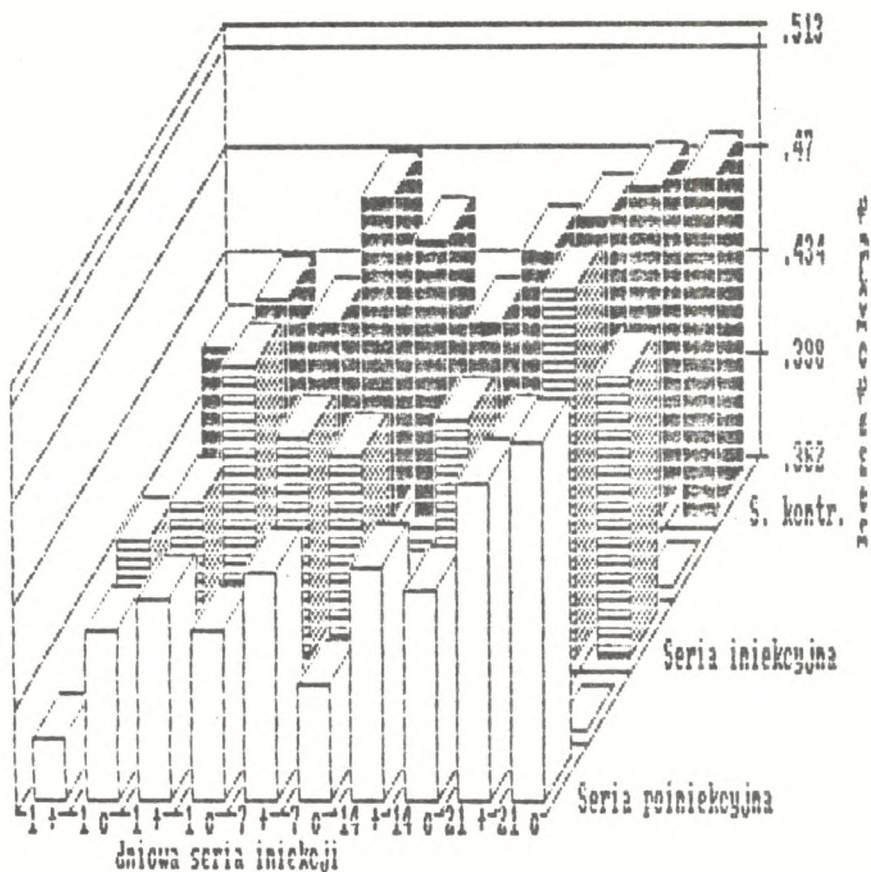
Jak już wspomniano, eksperymentalnie wykazano spadek liczby limfocytów w krwi obwodowej myszy po podaniu Diazepamu. Wydaje się być wysoce prawdopodobne, że efekt ten wiąże się z toksycznym oddziaływaniem leku na organizm. Substancje toksyczne powodują zwiększanie wydzielania kortykosteroidów przez korę nadnercza, co prowadzi do spadku liczby limfocy-



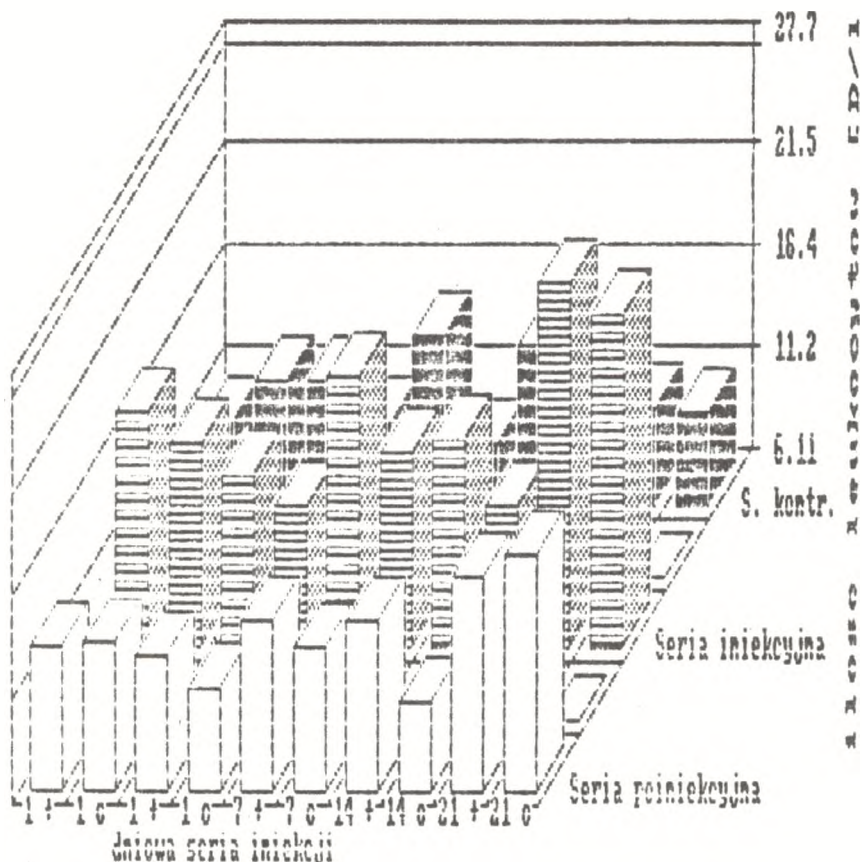
Ryc. 1. Zmiany liczby erytrocytów w krwi obwodowej samic i samców myszy wywołane jednorazową i chroniczną podażą Diazepamu. Dawka: 0,5 mg/kg wagi ciała. + - samice, 0 - samce



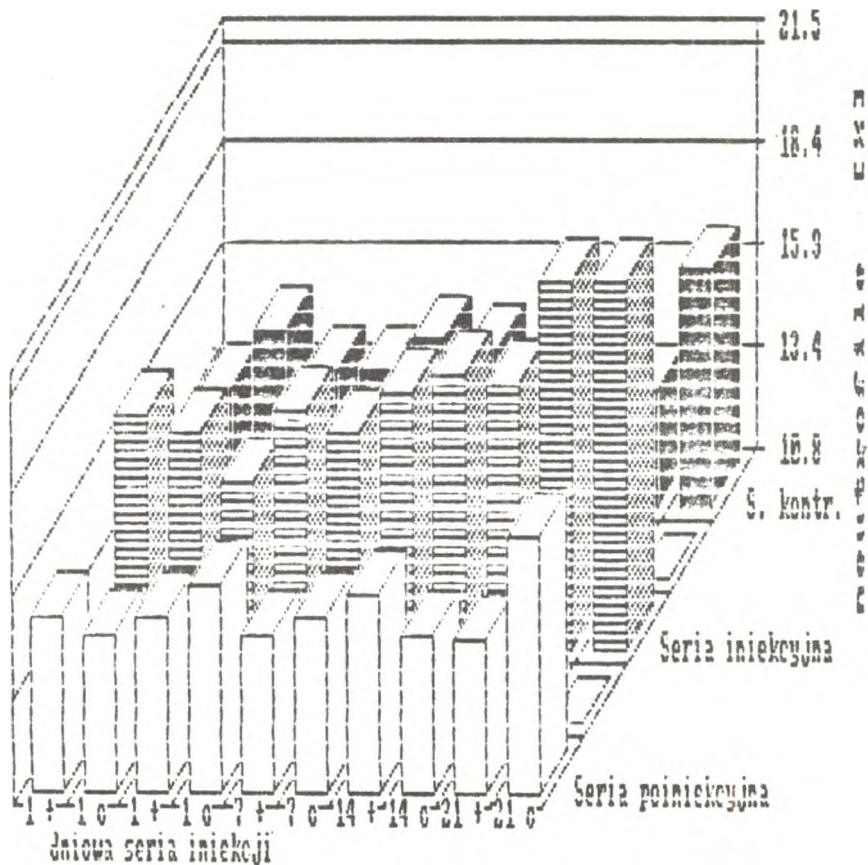
Ryc. 2. Zmiany zawartości hemoglobiny w krwi obwodowej samic i samców myszy wywołane jednorazową i chroniczną podażą Diazepamu. Dawka: 0,5 mg/kg wagi ciała. + - samice, 0 - samce



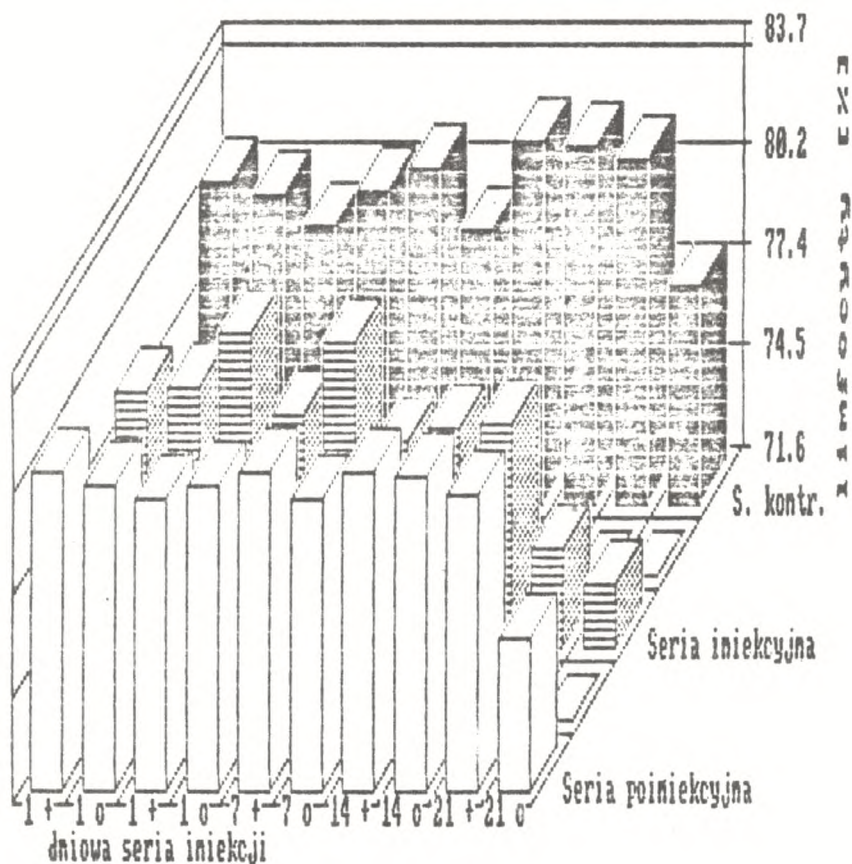
Ryc. 3. Zmiany wartości hematokrytu krwi samic i samców myszy wywołane jednorazową i chroniczną podażą Diazepamu. Dawka: 0,5 mg/lkg wagi ciała. + - samice, 0 - samce



Ryc. 4. Zmiany ogólnej liczby leukocytów w krwi obwodowej samic i samców myszy wywołane jednorazową i chroniczną podażą Diazepamu. Dawka: 0,5 mg/kg wagi ciała. + - samice, 0 - samce



Ryc. 5. Zmiany liczby neutrofilów w krwi obwodowej samic i samców myszy wywołane jednorazową i chroniczną podażą Diazepamu. Dawka: 0,5 mg/kg wagi ciała. + - samice, 0 - samce.



Ryc. 6. Zmiany liczby limfocytów w krwi obwodowej samic i samców myszy wywołane jednorazową i chroniczną podażą Diazepamu. Dawka: 0,5 mg/1kg wagi ciała. + - samice, 0 - samce

tów. Nie jest wykluczone, że Diazepam, który wykazuje działanie przeciwlękowe poprzez wpływ na ACTH właśnie tą drogą doprowadza do spadku liczby limfocytów (Chodera, Mrozikiewicz, 1986). Prawdopodobnie również wzrost liczby neutrofilów w serii iniekcyjnej wiąże się z toksycznym oddziaływaniem preparatu na organizm.

Z przeprowadzonych rozważań wynika, że Diazepam powoduje istotne zmiany w obrazie krwi obwodowej. Należy więc podając lek chorym zachować dużą ostrożność. Wskazane jest prowadzenie systematycznej kontroli hematologicznej.

Literatura

- Blackwell B., 1973. Psychotropic drugs in use today; the role of Diazepam in medical practice. J. Amer. Med. Ass. 24 sept. 1973, Vol. 225 No 13, pp. 1637-1641.
- Chodera A., Mrozikiewicz A., 1986. Uboczne działanie leków. Biblioteka Farmaceuty, Tom X, PZWL, Warszawa.
- Dąbrowski St., Welbel L., 1974. Polskie benzodiazepiny (Relanium, Eleanium, Oxezepam, Nitrozepam). Ter. i Lek. Tom XXIV, Nr 5/6, s. 248-251, Warszawa.
- Garish M., Smyder S. H., 1980. Soluble Benzodiazepine Receptors: GABAergic Regulation. Life Sciences, Vol. 26, pp. 579-582.
- Gonsloves F. S., 1987. Tome course of developemant of anticonvulsant tolerance and GABAergic subsensitivity ofter chronic Diazepam. Brein Res, Mar. 3, 405 (1) pp. 94-99.
- Janicki P., Rewerski W., 1981. Farmakologia kliniczna benzodiazepin (BDA). Pol. Tyg. Lek., Tom XXXVI, nr 34, s. 1313-1316.
- Jaroszyński J., 1970. Leki psychotropowe, Centrum Kształcenia Podypłomowego. Biblioteka Lekarza Praktyka, Seria 2, Tom XXXII.
- Kostowski W., 1980. Mechanizm działania leków aksjolitycznych z grupy benzodiazepin. Ter. i Lek. Tom XXX, Nr 1, s. 19-25.
- Ławkowicz Wł., Krzemińska-Ławkowiczowa I., 1965. Kliniczna diagnostyka różnicowa w hematologii. PZWL, Warszawa.

- Maj J., 1971. Efekty farmakologiczne leków psychotropowych a aminy katecholowe. Post. Hig. i Med. Dośw., Tom XXV, Zeszyt 2, s. 215-228.
- Moehlel H., Okada T., 1977. Benzodiazepine receptor: Demonstration in the central nervous system. Science, Nr 198, pp. 849.
- Nutt D. J., 1987. Diazepam alters brain 5-HT function in man: implications for the acute and chronic effects of benzodiazepines, Psychol. Med. Aug. 17 (3), 609-7.
- Rewerski W., Janicki P. K., 1982. Receptory benzodiazepinowe, Pol. Tyg. Lek., Tom XXXIII, Nr 38, s. 1141-1143.
- Skegg D. G. G., Rechards S. M., Doll R., 1979. Minor tranquilisers and road accidents. Brit. Med. J., 7 April, 1 pp. 917-919.
- Welbel L., 1984. Różnice w działaniu klinicznym niektórych pochodnych BDA. Ter. i Lek. R. 34. Nr 6, s. 225-231.
- Vetulani J., 1969. Neuroleptyki - pochodne fenotiazyny i butyrofenonu, Post. Hig. i Med. Dośw., Tam XXIII, Zeszyt 5, s. 662-665.

THE CHANGES IN THE MOUSE BLOOD PICTURE INDUCED BY DIAZEPAM

Summary

The study on Diazepam's influence were carried out. Diazepam is a psychotropic medicine, ataraktyc of benzodiazepines group which influence on the picture of mouse's blood. The outcome was: increase amount of erythrocytes and Hb and decrease Ht. Also, they noticed increase general number of leucocytes and number neutrofiles and decrease number of limfocytes in the peripheral blood.

Long-term using Diazepam introduces the changes in the blood in mouse.

Агнешка Сутковска

**-Изменения в образе периферической крови мыши
вызванные влиянием Диазепама**

Резюме

Исследовано влияние Диазепама, психотропного лекарства, принадлежащего к атарактикам из группы бензодиазеликов, на образ периферической крови мышей. Вследствие проведенных исследований был отмечен рост количества эритроцитов, уровня гемоглобина, падение величины гематокритного индикатора. Одновременно был отмечен рост общего количества лейкоцитов и нейтрофилов, а также падение количества лимфоцитов в периферической крови. Длительное применение Диазепама вызывает существенные изменения в образе периферической крови мыши.