

Zakład Histologii i Embriologii. Instytut Biologiczno--Morfologiczny.
Akademia Medyczna w Lublinie

Kierownik: prof. dr med. dr h.c. Stanisław Grzycki

Krystyna CZERNY, Włodzimierz MATYSIAK,
Elżbieta CHABROS

**Doświadczalne badania błony śluzowej jelita cienkiego szczura
po doustnym podaniu preparatu Piasclédine**

Экспериментальное исследование слизистой оболочки тонкой кишки после
перорального введения препарата Piasclédine

Experimental Studies of the Small Intestine Mucosa after an Oral Administration
of Piasclédine

Piasclédine jest preparatem produkcji Laboratoires Pharmascience (Courzbevoie), stosowanym od kilkunastu lat w próbach leczenia niektórych zwyrodnień kolagenowych, np. sklerodermii, a także w stomatologii — w leczeniu przyzębicy (4, 5). W tych zespołach chorobowych rozległemu uszkodzeniu ulegają tkanki przewodu pokarmowego, dlatego w obecnej pracy zajęto się badaniem błony śluzowej jelita cienkiego, gdzie, oprócz zmian występujących w kolagenozach, odbywa się intensywne wchłanianie leku podanego dożołądkowo (1, 7). Zastosowano wysokie dawki Piasclédine, spodziewając się uzyskania reakcji ze strony struktur komórkowych, co mogłoby przyczynić się do poznania nieznanego dotychczas mechanizmu działania leku (2, 3).

MATERIAŁ I METODY

Do badań użyto 10 szczurów białych, samców o c.c. ok. 220 g z hodowli wsobnej. Piasclédine (roztwór w *oleum olivae*) podawano sondą dożołądkowo w ilościach 20 mg/kg c.c. (3 szczury) i 40 mg/kg c.c. (4 szczury). Wykonano również podawanie kontrolne (3 szczury) samego *oleum olivae*. Materiał do badań pobrano po 28 dniach podawania leku. Jelito utrwalono wg Bakera (9) w temp. 4°C przez 24 godz. Na skrawkach mrożonych grubości 10 μ wykonano odczyny histochemiczne na aktywność fosfatazy zasadowej (9), fosfatazy kwaśnej (9), oraz adenozyotrójfosfatazy (9). Wykonano również na skrawkach parafinowych grubości 9 μ reakcje na mukopolisacharydy obojętne (PAS) (9) oraz barwienie przeglądowe hematoksyliną i eozyną (9).

WYNIKI BADAŃ WŁASNYCH

Grupa doświadczalna I (20 mg/kg c.c. szczura)

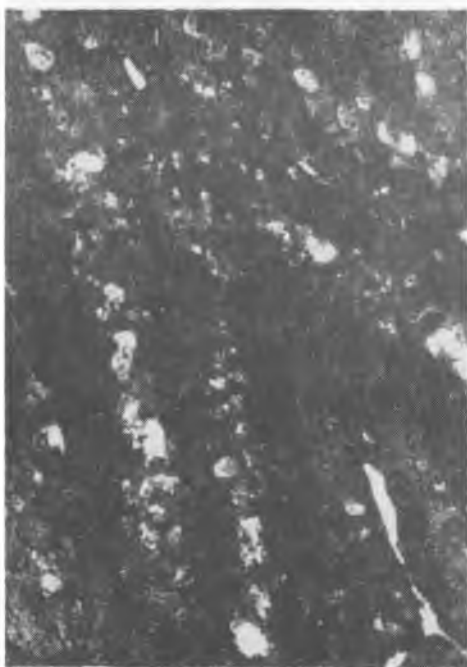
Po zażarwieniu hematoksyliną i eozyną zarówno nabłonek, jak i tkanki błony śluzowej właściwej jelita w grupie kontrolnej przy tym sposobie barwienia nie różniły się od preparatów doświadczalnych. Również po zabarwieniu preparatów metodą PAS wg McManusa nie zaobserwowano różnic pomiędzy grupami kontrolną i doświadczalną. W błonach komórkowych i śródbłonkach naczyń krwionośnych stwierdzono bardzo żywą reakcję na aktywność adenozynotrójfosfatazy (ATP-azy). W preparatach zwierząt grupy doświadczalnej reakcja ta była intensywniejsza w porównaniu z grupą kontrolną. Dotyczy to zwłaszcza rąbka szczoteczki komórek nabłonka, pozostałe struktury komórkowe nie wykazywały tak ewidentnych różnic (ryc. 1). Odczyn na fosfatę kwaśną u zwierząt doświadczalnych był intensywny, nie różnił się jednak (na 80% wykonanych preparatów histochemicznych) od obrazów preparatów zwierząt kontrolnych (ryc. 2). Aktywność fosfatazy zasadowej była w nabłonku jelita cienkiego bardzo żywa, stwierdzono także bardzo obfite produkty reakcji w rąbku szczoteczki, przysłaniające cały górny biegun komórki (ryc. 3).

Grupa doświadczalna II (40 mg/kg c.c. szczura)

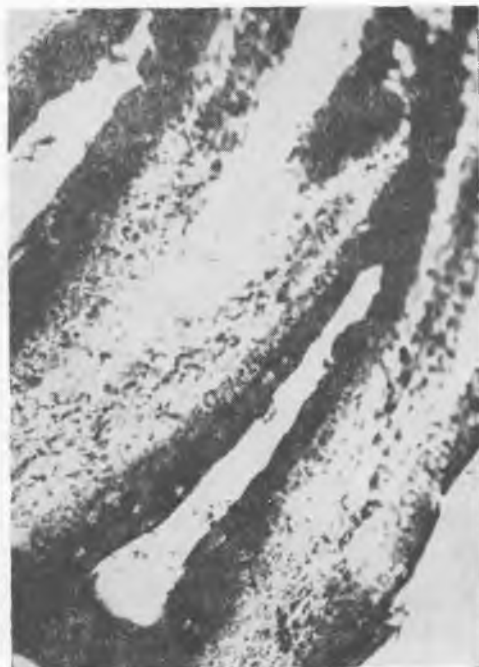
Na preparatach zabarwionych hematoksyliną i eozyną stwierdzić można u zwierząt doświadczalnych wzrost intensywności zabarwienia cytoplazmy eozyną w porównaniu z grupą kontrolną. Silnie zarysował się zwłaszcza wysoki rąbek szczoteczki enterocytów (ryc. 4). Jądra komórkowe były wydłużone, miały gęsty zrab chromatynowy, sprawiały wrażenie „ściśniętych”. Natomiast ilość i wygląd komórek kubkowych i komórek Panetha w kryptach Lieberkühna nie uległy zmianie. W tkance łącznej błony śluzowej właściwej stwierdzano często rozszerzenie naczyń krwionośnych; występowała również duża ilość naczyń włosowatych.

Po zabarwieniu wg metody PAS McManusa zauważono wzrost ilości barwiących się tą metodą mukopolisacharydów obojętnych w rąbku szczoteczki enterocytów. Błony podstawowe nabłonka nie wykazywały widocznych zmian. Również nie różniły się w porównaniu z obrazami kontrolnymi komórki śluzowe nabłonka (ryc. 5). Tkanka łączna błony śluzowej właściwej preparatów doświadczalnych wykazywała w odczynie PAS tę samą barwliwość co u zwierząt kontrolnych.

Odczyn na aktywność adenozynotrójfosfatazy w rąbku szczoteczki komórek nabłonka był w tej grupie doświadczalnej bardzo silny. Natomiast stwierdzono osłabienie intensywności reakcji w innych struk-



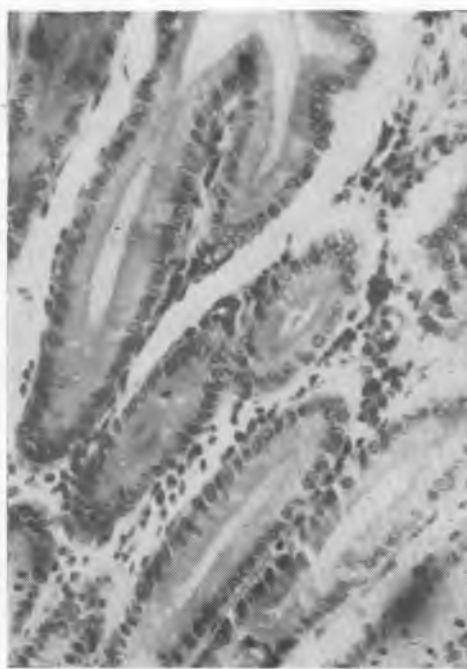
Ryc. 1



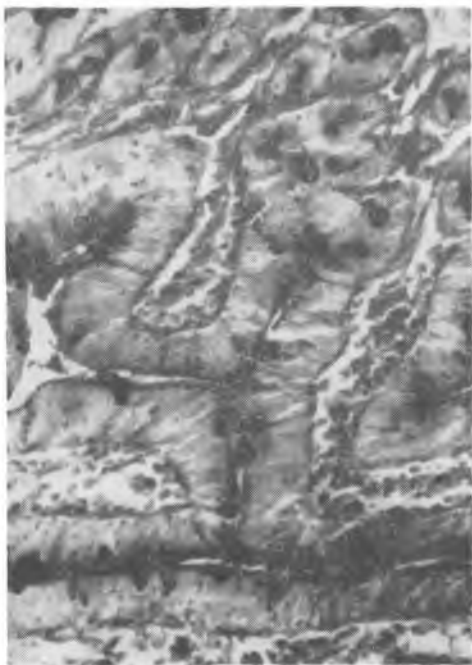
Ryc. 2



Ryc. 3



Ryc. 4



Ryc. 5



Ryc. 6



Ryc. 7



Ryc. 8

turach komórkowych, np. w błonach komórkowych enterocytów (ryc. 6). Reakcja na aktywność fosfatazy kwaśnej była u zwierząt doświadczalnych bardzo intensywna. W nabłonku i komórkach żernych tkanki błony śluzowej właściwej miała charakter gruboziarnisty, często dyfuzyjny (ryc. 7). Reakcja na aktywność fosfatazy zasadowej była silniejsza w porównaniu z preparatami zwierząt kontrolnych. Występował zwłaszcza wzrost intensywności odczynu w tkance łącznej błony śluzowej właściwej (ryc. 8). Dotyczyło to błon komórkowych i śródbłonek naczyń.

OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ I WNIOSKI

W błonie śluzowej jelita cienkiego zachodzą intensywne procesy wchłaniania tłuszczowców (6), do których należy m. in. niezmydlalna frakcja oleju wchodząca w skład *Piasclédine*. Frakcja niezmydlalna jest specyficzną dla oleju, z którego została wyekstrahowana. Skład jej jest zawsze stały. Znajdują się tu nienasycone i nasycone węglowodory, alkohole alifatyczne, terpeny, tokoferole i przede wszystkim fitosterole. Przy pomocy analizy spektroskopowej stwierdzono, że sterole roślinne stanowią mieszaninę homologów sitosterolu, stigmasterolu i komposterolu. Największe działanie lecznicze ma stigmasterol.

Zwrócono uwagę na korzystny wpływ wyciągu z roślin zawierających te związki chemiczne w schorzeniach m. in. tkanki łącznej. W r. 1936 zajęto się badaniem wpływu niezmydlalnych frakcji oleju roślinnego na zespół objawów przypominających schorzenia sklerodermiczne (8, 10). Obserwacje przeprowadzone na śwince morskiej, której podawano te właśnie składniki, pozwoliły upewnić się, że głównym składnikiem działającym korzystnie był stigmasterol. Na podstawie tych obserwacji ustalono główny składnik leku, który mógłby stać się bardzo przydatny w leczeniu niektórych chorób o niejasnej etiologii, jaką jest m. in. twardzina i paradentozy (4, 5).

Stosowanie przewlekłe dużych dawek *Piasclédine*, jak wykazują nasze badania, wywiera widoczny wpływ na nabłonek jelita cienkiego. Dawka 20 mg/kg c.c. szczura powoduje wzrost intensywności reakcji na aktywność ATP-azy w rąbku szczoteczkowym enterocytów. Wzmoczenie aktywności tego enzymu jest wyrazem podwyższenia poziomu energetycznego błony komórkowej nabłonka jelita cienkiego, co jest zjawiskiem korzystnym. Równocześnie nie zmienia się aktywność fosfatazy kwaśnej.

Odczyn na mukopolisacharydy nie ulega zmianie zauważalnej w grupie I doświadczalnej. Tkanka łączna błony śluzowej nie ulega widocznym zmianom zarówno histochemicznym, jak i morfologicznym.

Dawka 40 mg/kg c.c. szczura powoduje wzrost eozylochłonności cy-

toplazmy i zagęszczenie zrębu chromatynowego jąder. Rąbek szczoteczkowy jest jeszcze grubszy, aktywność ATP-azy silna. Widać równocześnie wzrost intensywności reakcji na fosfatazę zasadową i wybitny wzrost aktywności fosfatazy kwaśnej, przy czym odczyn bywa często dyfuzyjny. Wzrasta też aktywność fosfataz niespecyficznych w tkance łącznej i podścieliskowej. Naczynia krwionośne są poszerzone, zwiększa się ilość naczyń włosowatych. Opisane zjawiska występujące w nabłonku zaliczyć można do zjawisk niekorzystnych, zwłaszcza dyfuzyjny odczyn na aktywność fosfatazy kwaśnej świadczy o uszkodzeniu metabolizmu komórek.

Na podstawie przeprowadzonych obserwacji można przyjąć, że:

1. Preparat Piasclédine w dawce 20 mg/kg c.c. szczura, podawany w ciągu 28 dni dożołądkowo, przyczynia się do korzystnego wzrostu metabolizmu nabłonka jelita cienkiego (wzrost aktywności ATP-azy).

2. Preparat Piasclédine w dawce 40 mg/kg c.c. szczura, podawany w ciągu 28 dni dożołądkowo, wpływa ujemnie na nabłonek jelita cienkiego (dyfuzyjny odczyn na fosfatazę kwaśną).

3. Na preparat najpierw reagują struktury nabłonka jelita cienkiego, zaś błona śluzowa właściwa później, stąd prawdopodobnie istnieje konieczność długotrwałego stosowania tego leku w celu uzyskania właściwych rezultatów w leczeniu chorób tkanki łącznej.

PIŚMIENNICTWO

1. Best C. H., Taylor N. B.: Fizjologiczne podstawy postępowania lekarskiego. PZWL, Warszawa 1971.
2. Czerny K., Mitros M.: Doświadczalne badanie wpływu preparatu farmakologicznego „Piasclédine” na kanaliki główne nerki. Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, sectio D **31**, 227—230, 1976.
3. Hano J., Sierosińska J.: Farmakologia i farmakodynamika. PZWL, Warszawa 1972.
4. Jabłońska S.: Choroby skóry. PZWL, Warszawa 1973.
5. Jarzab G.: Piasclédine w leczeniu paradontopatii. Czas. stomat. **28**, 4, 1975.
6. Karlson P.: Zarys biochemii. PZWL, Warszawa 1972.
7. Lattes G. A.: Rev. de Stomatol. **71**, 577—580, 1970.
8. Panova D.: Planta Medica **26**, 20, 1974.
9. Pearse A. G. E.: Histochemia teoretyczna i stosowana. PZWL, Warszawa 1961.
10. Thiers H.: Piasclédine. Therapie **16**, 235—251, 1961.

Otrzymano 3 XI 1977.

OBJAŚNIENIA RYCIŃ

Ryc. 1. Jelito cienkie szczura. Reakcja na aktywność ATP-azy przy $pH=7,2$. Grupa doświadczalna I. Bardzo intensywny odczyn w błonach komórkowych, zwłaszcza w rąbku szczoteczkowym. Pow. ok. 250X.

Ryc. 2. Jelito cienkie szczura. Reakcja na aktywność fosfatazy kwaśnej przy $pH=5,4$. Grupa doświadczalna I. Odczyn ziarnisty, rozmieszczony prawidłowo, intensywność duża, lecz w granicach normy. Pow. ok. $250\times$.

Ryc. 3. Jelito cienkie szczura. Reakcja na aktywność fosfatazy zasadowej przy $pH=9,2$. Grupa doświadczalna I. Intensywność i lokalizacja odczynu w nabłonku nie różni się od preparatów kontrolnych. Intensywny odczyn w tkance łącznej błony śluzowej. Pow. ok. $250\times$.

Ryc. 4. Jelito cienkie szczura. Barwienie hematoksyliną i eozyną. Grupa doświadczalna II. Wzrasta intensywność zabarwienia eozyną okolicy rąbka szczoteczki komórek nabłonka. Tkanka łączna błony śluzowej bez zmian. Pow. ok. $250\times$.

Ryc. 5. Jelito cienkie szczura. Barwienie wg metody PAS. Grupa doświadczalna II. Intensywna reakcja w rąbku szczoteczki komórek nabłonka. Płóść komórek kubkowych prawidłowa. Pow. ok. $250\times$.

Ryc. 6. Jelito cienkie szczura. Reakcja na aktywność ATP-azy przy $pH=7,2$. Grupa doświadczalna II. Osłabienie odczynu w błonach komórkowych. Pow. ok. $250\times$.

Ryc. 7. Jelito cienkie szczura. Reakcja na aktywność fosfatazy kwaśnej przy $pH=5,4$. Grupa doświadczalna II. Odczyn bardzo silny, ziarnisty i dyfuzyjny. Pow. ok. $250\times$.

Ryc. 8. Jelito cienkie szczura. Reakcja na aktywność fosfatazy zasadowej przy $pH=9,2$. Grupa doświadczalna II. Odczyn bardzo intensywny w nabłonku i tkance łącznej błony śluzowej. Pow. ok. $250\times$.

РЕЗЮМЕ

С помощью гистохимических методов подвергалось исследованию влияние Пиаслэдине на ткани тонкой кишки белой крысы. Препарат вводился перорально дозами в 20 и 40 мг/кг веса тела. Установлено, что сначала происходят изменения в гистохимической картине эпителия ворсинок и желёз, а лишь потом реагирует соединительная ткань.

SUMMARY

The effect of Piasclédine on the small intestine tissues of white rats has been studied by means of histochemical methods. The preparation has been orally administered in doses of 20 and 40 mg/kg b.w. The changes in the histochemical picture of the intestinal and glandular epithelium appeared first and then histochemical alterations in connective tissue occurred.

EXPLANATION OF FIGURES

Fig. 1. Rat's small intestine. Reaction to ATP-ase activity in $pH=7,2$. The first experimental group. A strong intensive reaction within cell membranes and especially in brush border. Magn. ca $250\times$.

Fig. 2. Rat's small intestine. Reaction to acid phosphatase activity in $pH=5,4$. The first experimental group. Granular reaction of large normal intensity is normally distributed. Magn. ca $250\times$.

Fig. 3. Rat's small intestine. Reaction to alkaline phosphatase activity in $pH=9,2$. The first experimental group. The intensity and distribution of the reaction does not differ in comparison to controls within intestinal epithelium. An intensive reaction in the epithelium and the connective tissue of small intestinal mucosa is visible. Magn. ca 250 \times .

Fig. 4. Rat's small intestine. Hematoxylin and eosin staining. The second experimental group. An increased of eosin staining in the region of brush border epithelial cells. The connective tissue of intestinal mucosa does not reveal any changes. Magn. ca 250 \times .

Fig. 5. Rat's small intestine. PAS-method staining. The second experimental group. An intensive reaction within brush border of epithelial cells. The amount of the goblet cells is normal. Magn. ca 250 \times .

Fig. 6. Rat's small intestine. Reaction to ATP-ase activity in $pH=7,2$. The second experimental group. A weakness of reaction in cell membranes. Magn. ca 250 \times .

Fig. 7. Rat's small intestine. Reaction to acid phosphatase activity in $pH=5,4$. The second experimental group. A very strong, granular — diffusive reaction. Magn. ca 250 \times .

Fig. 8. Rat's small intestine. Reaction to alkaline phosphatase in $pH=9,2$. The second experimental group. A very intensive reaction within the epithelium and connective tissue of intestinal mucosa. Magn. ca 250 \times .