

Katedra i Zakład Histologii i Embriologii. Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: prof. dr hab. Irena Królikowska-Prasał

Ewa KIFER-WYSOCKA, Jadwiga ROMANOWSKA-SARLEJ,
Włodzimierz MATYSIAK, Krystyna CZERNY

Obraz histoenzymatyczny błony śluzowej żołądka szczura znajdującego się pod wpływem Dexamethasonu

Histoenzymatic Picture of Rat Gastric Mucosa Affected by Dexamethasone

Glikokortykosteroidy znajdują zastosowanie terapeutyczne ze względu na działanie przeciwzapalne, przeciwalergiczne i przeciwnowotworowe (9). Są one przede wszystkim regulatorami przemiany węglowodanowej organizmu, wzmagają glukoneogenezę i hamują glikolizę (3). Wykazują również działanie kataboliczne na przemianę białek, zwalniając ich syntezę i pobudzając ich wewnątrzkomórkowy rozpad, natomiast utrudniają spalanie tłuszczów, powodując zwiększenie masy ciała przez nasilenie lipogenezy (7).

Jednym z silnie działających leków z grupy glikokortykoidów jest Dexamethason (9- α -fluoro-16- α -metyloprednisolon), który szczególnie silnie działa przeciwzapalnie i przeciwwysiękowo (10). Wykazuje natomiast znacznie słabsze, niż inne glikokortykoidy, działanie stymulujące glikoneogenezę, dlatego może być stosowany u ludzi otyłych. Ponadto Dexamethason nie wykazuje działania diabetogennego i może być podawany pacjentom z cukrzycą (8, 10). Dexamethason wywołuje słabsze i rzadziej występujące objawy uboczne niż na przykład kortyzon (2, 10). Jednak dłuższe stosowanie Dexamethasonu nie jest korzystne, a wśród przeciwwskazań spotyka się, podobnie jak przy innych glikokortykoidach, chorobę wrzodową żołądka i dwunastnicy (9, 10).

Uczynniające chorobę wrzodową działanie Dexamethasonu skłoniło nas do podjęcia obserwacji mikroskopowej błony śluzowej żołądka u szczurów oraz oceny aktywności wybranych enzymów hydrolitycznych po krótkotrwałym podawaniu leku.

MATERIAŁ I METODYKA BADAŃ

Badania przeprowadzono na 20 szczurach białych, samcach szczepu Wistar, o masie ciała 250—370 g, pochodzących z hodowli wsobnej. Szczury losowo podzielono na 4 grupy. W grupach doświadczalnych szczurom podawano sondą dożołądkowo zawiesinę wodną Dexamethasonu w dawce jednorazowej 0,35 mg w 1 ml/dobę. W grupie I doświadczalnej lek zastosowano jednorazowo. Zwierzętom grupy II doświadczalnej lek podawano przez 2 dni, a w grupie III — przez

7 dni. Zwierzęta grupy kontrolnej otrzymywały sondą wodę destylowaną. Po 24 godz. od ostatniego podania leku zwierzęta z poszczególnych grup dekapitowano i pobierano wycinki z trzonu żołądka do badań. Na skrawkach błony śluzowej żołądka wykonano barwienie hematoksyliną i eozyną, reakcję na wielocukry metodą PAS według McManusa, reakcje na aktywność fosfataz: kwaśnej (E.C.3.1.3.2) i zasadowej (E.C.3.1.3.1) według metody Gomoriego i ATP-azy (E.C.3.6.1.3) według metody Wachsteina i Meisel. Preparaty oceniano w mikroskopie Jenamed (Zeiss, Jena), a mikrofotografie wykonano za pomocą przystawki mikrofotograficznej MF (Zeiss, Jena).

WYNIKI BADAŃ WŁASNYCH

Grupa kontrolna

Barwienie H + E wykazało typową budowę błony śluzowej trzonu żołądka z gruczołami cewkowymi zbudowanymi z komórek głównych i okładzinowych oraz słabo widocznych komórek śluzowych szyjkowych (ryc. 1). Pozytywna reakcja PAS ujawniła purpurowo wybarwione substancje polisacharydowe w komórkach części szyjkowej gruczołów właściwych żołądka oraz na powierzchni nabłonka pokrywającego błonę śluzową (ryc. 2). Odczyn na aktywność fosfatazy kwaśnej w postaci drobnych, brunatnych ziarenek produktu reakcji ujawnił się najwyraźniej w komórkach głównych w okolicy dna gruczołów właściwych żołądka. Słabszą reakcję wykazywały komórki okładzinowe (ryc. 3). Słaby dyfuzyjny odczyn na aktywność fosfatazy zasadowej zaznaczył się w komórkach gruczołów właściwych żołądka, wyraźniej w okolicy dna gruczołów. W reakcji na aktywność fosfatazy zasadowej delikatnie wyznaczone zostały błony komórek okładzinowych, a fragmentarycznie — błony komórek nabłonka pokrywającego pólka i dołeczki żołądkowe. Wyraźną reakcję pozytywną na aktywność ATP-azy obserwowano w sieci naczyniowej błony śluzowej trzonu żołądka. Dyfuzyjny odczyn wystąpił w komórkach nabłonka dołeczków żołądkowych i bardzo słaby w komórkach gruczołów właściwych żołądka. Odczyn na aktywność ATP-azy wyznaczył bardzo delikatnie błony komórkowe nabłonka pokrywającego błonę śluzową.

Grupy doświadczalne

W grupie I zwierząt doświadczalnych (jednorazowe podanie Dexamethasonu) nie zauważono różnic w budowie histologicznej błony śluzowej trzonu żołądka, a także w wynikach wykonanych reakcji histochemicznych w porównaniu do opisanych w grupie kontrolnej.

W grupie II doświadczalnej (2-krotne podanie Dexamethasonu) warstwa polisacharydów wybarwionych w reakcji PAS była delikatniejsza niż w grupie

kontrolnej i grupie I doświadczalnej, a odczyn na wielocukry był fragmentarycznie ujemny. Pozostałe barwienia i reakcje histochemiczne nie ujawniły zauważalnych zmian w aktywności enzymów oraz w budowie błony śluzowej trzonu żołądka w porównaniu do obserwowanych u zwierząt kontrolnych.

W błonie śluzowej żołądka u zwierząt grupy III doświadczalnej (Dexamethason podawano przez 7 dni) barwienie H + E ujawniło niewielkie uszkodzenia nabłonka pokrywającego błonę śluzową żołądka (ryc. 4). Obserwowano wyraźniejsze niż w grupie II fragmenty błony śluzowej nie wykazujące obecności substancji PAS-pozytywnych tak na powierzchni błony śluzowej, jak i w komórkach części szyjkowej gruczołów (ryc. 5). Obok fragmentów wykazujących brak pozytywnej reakcji PAS występowały znaczne obszary błony śluzowej z podobnie lub niekiedy nawet silniej niż u zwierząt kontrolnych wyrażoną reakcją PAS. W omawianej grupie zwierząt zauważono nieznaczne wzmoczenie odczynów na badane enzymy w porównaniu z grupą kontrolną. Wyższą aktywność fosfatazy kwaśnej ujawniły komórki główne gruczołów właściwych żołądka (ryc. 6). Reakcja na aktywność fosfatazy zasadowej miejscami wyraźniej wyznaczyła błony komórek nabłonka pokrywającego i komórek gruczołowych. Również w reakcji na aktywność ATP-azy błony komórek nabłonka pokrywającego pólka i dołeczki żołądkowe były fragmentarycznie intensywniej wyznaczone niż w grupie II. Ponadto wzmoczenie odczynu na ATP-azę obserwowano w sieci naczyniowej błony śluzowej trzonu żołądka, szczególnie w okolicy szyjkowej.

OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ

Obserwacje mikroskopowe błony śluzowej trzonu żołądka wykazały, że 2-krotne podanie Dexamethasonu w dawce 0,35 mg/dobę powodowało zmniejszenie ilości polisacharydów wykrywanych według metody PAS, jak również miejscowo brak pozytywnej reakcji w błonie śluzowej trzonu żołądka. U zwierząt otrzymujących lek przez kolejnych 7 dni ubytki w warstwie polisacharydów były jeszcze wyraźniejsze. Barwienie przeglądowe również wykazało fragmentaryczne uszkodzenia nabłonka pokrywającego błonę śluzową.

Ricciardi i wsp. (11, 12), badając śliniankę podżuchwową szczurów i inne narządy po zastosowaniu Dexamethasonu, obserwowali, podobnie jak w naszych badaniach, uszkodzenia w morfologii narządów, spadek substancji PAS-dodatnich przy braku wyraźnych zmian w badaniach histochemicznych.

Ujawnione w reakcji PAS polisacharydy stanowią warstwę śluzu tworzącego barierę ochronną dla komórek przed uszkadzającym działaniem HCl i pepsyny. Jedną z funkcji śluzu występującego w żołądku jest transport jonów H^+ z komórek okładzinowych do światła narządu, uniemożliwiający kontakt z komórkami nabłonkowymi. Tę rolę spełnia śluz siarczanowy produkowany przez komórki śluzowe szyjkowe (1). Komórki nabłonkowe pokrywające błonę

śluzową produkują wodorowęglany i transportujący je śluz ubogosiarczanowy (1). Te dwa odmienne rodzaje wydzielin śluzowych zapobiegają powstawaniu HCl i uczynnianiu pepsynogenu przed światłem żołądka. Zaburzenia w wydzielaniu substancji śluzowych w żołądku mogą prowadzić do uszkodzenia bariery ochronnej, a tym samym sprzyjać powstawaniu wrzodów przez kontakt komórek z kwasem solnym i pepsyną (4). Glikokortykoidy wpływają pobudzająco na wydzielanie pepsynogenu i kwasu solnego (13), a obniżają wydzielanie i wpływają uszkadzająco na mukopolisacharydy.

Obserwowane w przedstawionym eksperymencie uszkodzenia nabłonka z miejscowym brakiem pozytywnej reakcji PAS wskazują na uszkadzający wpływ Dexamethasonu na barierę śluzową żołądka, co przy dłuższym stosowaniu tego leku może doprowadzić do powstania niszy wrzodowej.

Badane histochemicznie enzymy hydrolityczne ujawniły bardzo małe zmiany aktywności jedynie u zwierząt otrzymujących Dexamethason przez 7 dni. Niewielki wzrost aktywności fosfatazy kwaśnej obserwowano w komórkach głównych gruczołów właściwych żołądka. Istnieją sugestie, że proces uwalniania kwaśnych hydrolaz lizosomalnych w błonie śluzowej żołądka może odgrywać istotną rolę w powstawaniu wrzodów trawiennych (6, 14).

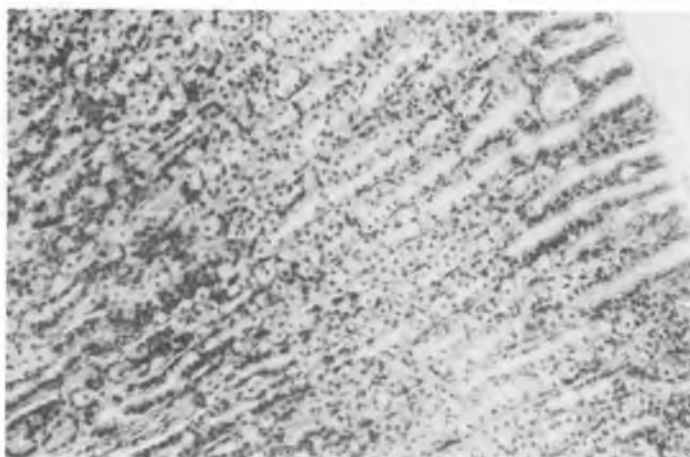
Obserwowane niewielkie zmiany dotyczące wzmocnienia odczynu na aktywność ATP-azy w sieci naczyńowej oraz fragmentaryczne ATP-azy i fosfatazy zasadowej w nabłonku żołądka nie sugerują istotnych zmian metabolizmu komórkowego.

Jak wykazały badania nad wpływem glikokortykoidów na komórki wątrobowe, Dexamethason i hydrokortyzon stymulują biosyntezę RNA będącego prawdopodobnie prekursorem mRNA (Yu, Feigelson — cyt. za 5), zawierającego kod dla biosyntezy specyficznych białek enzymatycznych (Drews, Brawerman — cyt. za 5). Pobudzenie syntezy białek w hepatocytach dotyczy głównie enzymów związanych z glikoneogenezą i polega na pobudzeniu transkrypcji, a w mniejszym stopniu — translacji (5).

Być może, że Dexamethason wywiera stymulujące działanie na syntezę innych białek enzymatycznych również w innych narządach, co mogłoby tłumaczyć niewielki wzrost aktywności badanych enzymów hydrolitycznych w błonie śluzowej żołądka.

Wnioski

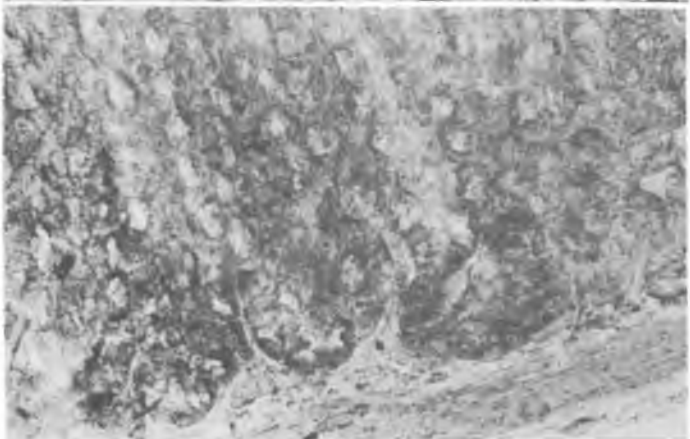
1. Jednorazowe podanie Dexamethasonu w dawce 0,35 mg/dobę nie powodowało zmian w obrazie histologicznym błony śluzowej żołądka szczura, natomiast 2-krotne podanie tego leku, a zwłaszcza 7-dniowe stosowanie wyraźnie uszkadzało barierę śluzową błony śluzowej żołądka.



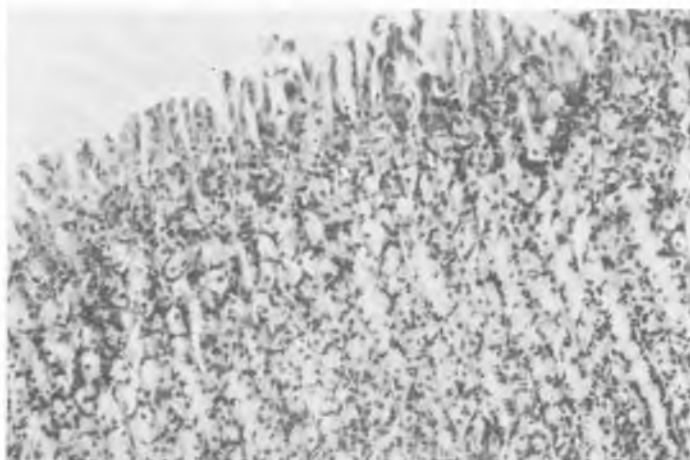
Ryc. 1



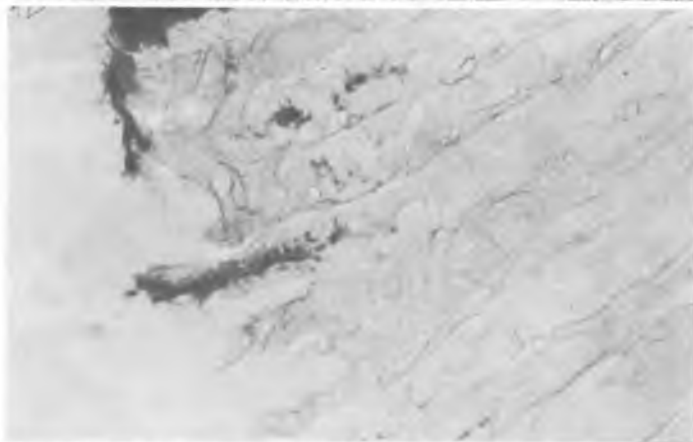
Ryc. 2



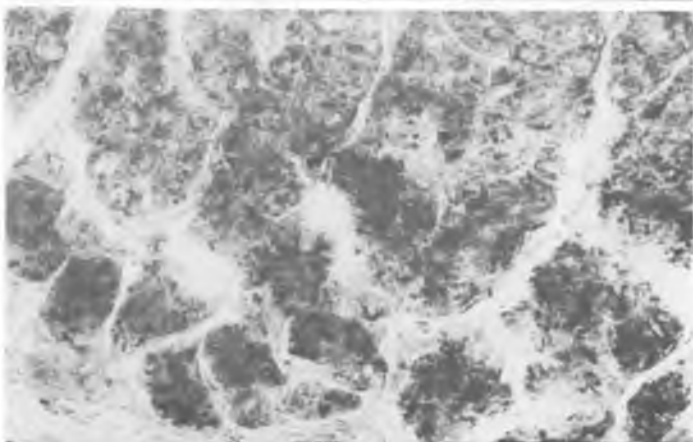
Ryc. 3



Ryc. 4



Ryc. 5



Ryc. 6

2. Aktywność badanych enzymów hydrolitycznych (ATP-azy, fosfotaz: kwaśnej i zasadowej) nie uległa istotnym zmianom po zastosowaniu Dexamethasonu.

3. Bardzo małe zmiany aktywności enzymów hydrolitycznych po 7-dniowym podawaniu Dexamethasonu przy równocześnie obserwowanym uszkodzeniu bariery śluzowej mogą sugerować, że dłuższe stosowanie tego leku może prowadzić do istotnych zaburzeń w błonie śluzowej żołądka, a tym samym do uczynnienia wrzodów.

PIŚMIENNICTWO

1. Dacka E.: Ocena wpływu zabiegów chirurgicznych stosowanych w leczeniu wrzodu trawienego na czynność i stan błony śluzowej żołądka. Praca habilitacyjna. AM, Lublin 1986.
2. Danysz A. i wsp.: *Vademecum „Pofa”*. PZWL, Warszawa 1987.
3. Danysz A., Kleinrok Z.: *Farmakologia*. PZWL, Warszawa 1987.
4. Fiszson-Ryss J. I., Gorszkow W. A.: Puti icializacyi kislotnopepticzeskoj agriesii pri duodienalnoj jazwie. *Tier, Arch.* **56**, 28, 1984.
5. Hepa J., Kochański L., Stanosek J.: Naturalne glikokortykoidy a metabolizm komórki wątrobowej. *Post. Biol. Kom.* **2**, 109, 1975.
6. Himal H. S., Greenberg L., Boutros M. J. R., Waldron-Edward D.: Effect of Aspirin on Ionic Movement and Acid Hydrolase Activity of Explants of Canine Antral and Duodenal Mucose. *Gastroenterology* **69**, 439, 1975.
7. Kubikowski P., Kostowski W.: *Farmakologia — podstawy farmakoterapii*. PZWL, Warszawa 1985.
8. Macura M.: Spostrzeżenia na temat leczenia nagminnego zapalenia wątroby deksametazonem. *Wiad. Lek.* **15**, 1212, 1965.
9. Pawlikowski M.: Leczenie hormonami i pochodnymi hormonów. PZWL, Warszawa 1988.
10. Podlewski J. K., Chwalibogowska-Podlowska A.: *Leki współczesnej terapii*. PZWL, Warszawa 1985.
11. Ricciardi M. P., Paparelli A., Pellegrini A.: Morphofunctional Research on the Effects of Steroid Stimulating and Inhibiting Drugs on the Major Salivary Glands of Rats. *Z. mikrosk. anat. Forsch. (Leipzig)* **103**, 257, 1989.
12. Ricciardi M. P., Pellegrini A., Giannessi F., Paparelli A.: Morphological and Histochemical Study on the Adrenal Cortex of the Dexamethasone-Treated Albino Rat. *Int. J. Tiss. React.* **6**, 333, 1984.
13. Taper H.: Patologia lecznicza, zwłaszcza poglikokortykoidowa, jako nowy dział patomorfologii. *Pol. Tyg. Lek.* **4**, 3, 1960.
14. Watson R. G. K., Hickman R., Berkman A. C., Gevers W.: Lysosomal Acid Hydrolase Alterations in Gastric Mucosa from an Experimental Peptic Ulcer Model. *Surg. Gynecol. Obstet.* **161**, 57, 1985.

Otrzymano 1991.10.12.

OPIS RYCIN

Ryc. 1. Grupa kontrolna. Żołądek szczura. Barwienie hematoksylina i eozyną. Pow. ca 40 ×.

Ryc. 2. Grupa kontrolna. Żołądek szczura. Reakcja PAS według McManusa. Pow. ca 80 ×.

Ryc. 3. Grupa kontrolna. Żołądek szczura. Odczyn na aktywność fosfatazy kwaśnej według metody Gomoriego. Pow. ca 80 ×.

Ryc. 4. Grupa III doświadczalna. Żołądek szczura. Barwienie hematoksyliną i eozyną. Pow. ca $40\times$.

Ryc. 5. Grupa III doświadczalna. Żołądek szczura. Reakcja PAS według McManusa. Pow. ca $80\times$.

Ryc. 6. Grupa III doświadczalna. Żołądek szczura. Odczyn na aktywność fosfatazy kwaśnej według metody Gomoriego. Pow. ca $80\times$.

SUMMARY

White female rats were given Dexamethasone in a single dose 0.35 mg/24 hrs. Group I was given the drug once, group II — received it for 2 days, and group III — for 7 days. 24 hrs after the medicine had been given the mucous membrane of the stomach corpus was collected for examinations. There were performed: H + E staining, PAS reaction and histochemical reaction to the activity of ATP-ase, acidous phosphatase and alkaline phosphatase. The results obtained were compared with those obtained in a group of control animals which were given distilled water. The administration of Dexamethasone did not affect significantly the activity of the examined hydrolases, however, it damaged the mucous barrier of the stomach, specially in the animals after 7 days of application of the drug.

EXPLANATION TO FIGURES

Fig 1. Control group. The gastric mucosa of the rat. Staining with hematoxylin and eosin. Magn. ca $40\times$.

Fig. 2. Control group. The gastric mucosa of the rat. PAS reaction — McManus method. Magn. ca $80\times$.

Fig. 3. Control group. The gastric mucosa of the rat. Reaction to acid phosphatase activity — Gomori method. Magn. ca $80\times$.

Fig. 4. Experimental group III. The gastric mucosa of the rat. Staining with hematoxylin and eosin. Magn. ca $40\times$.

Fig. 5. Experimental group III. The gastric mucosa of the rat. PAS reaction — McManus method. Magn. ca $80\times$.

Fig. 6. Experimental group III. The gastric mucosa of the rat. Reaction to acid phosphatase activity — Gomori method. Magn. ca $80\times$.