

Zakład Histologii i Embriologii. Instytut Biologiczno-Morfologiczny.
Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: prof. dr hab. Józef Staszyc

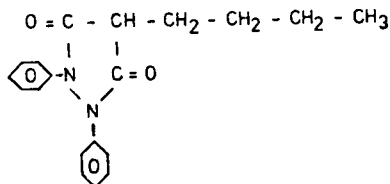
Irena KRÓLIKOWSKA-PRASAŁ

Zmiany histochemiczne w błonie śluzowej żołądka i jelit zwierząt doświadczalnych po podaniu Butapirazolu

Гистохимические изменения в слизистой оболочке желудка и кишки
экспериментальных животных после получения Бутапиразола

Histochemical Changes in the Gastric and Intestinal Mucosa
of Experimental Animals after the Administration of Butapirazole

Ważną grupę związków farmakologicznych stosowanych w chorobach reumatycznych stanowią pirazolony. Do nich należy pochodna pirazolidyny, tj. 3,5-dwukso-1,2-dwufenylo-4,n-butylo-pirazolidyna o nazwie fabrycznej Butapirazol (3, 4, 10, 12, 13).



Lek ten jest dobrze wchłaniany z jelita cienkiego po podaniu *per os* i *per rectum*. Jednak ze względu na dość dużą toksyczność istnieją przeciwwskazania do stosowania go w chorobach wrzodowych żołądka i dwunastnicy (9, 11).

Celem pracy jest prześledzenie zmian histochemicznych w błonie śluzowej żołądka i jelit zwierząt doświadczalnych w wyniku działania Butapirazolu.

MATERIAŁ I METODYKA BADAŃ

Doświadczenie przeprowadzono na samcach szczurów białych rasy Wistar, hodowli własnej, o ciężarze ciała ok. 220 g. Zwierzęta podzielono na 3 grupy doświad-

czalne i 1 grupę kontrolną (po 6 szczurów w każdej). Zwierzęta grupy I doświadczalnej otrzymywały sondą dożołądkowo przez 7 dni po 50 mg preparatu Butapirazol rozpuszczonego w 1 cm³ wody destylowanej. Zwierzęta grupy II doświadczalnej otrzymywały po 100 mg Butapirazolu również przez 7 dni. Natomiast zwierzęta grupy III doświadczalnej dostawały 50 mg leku przez okres 14 dni. Szczury kontrolne otrzymywały po 1 cm³ rozpuszczalnika (woda destylowana) przez tyle samo dni jak w odpowiedniej grupie doświadczalnej, tj. w grupie I i II kontrolnej — przez 7 dni, w grupie III kontrolnej — przez 14 dni. Butapirazol podawano zawsze w porze ranej, przed karmieniem.

Po 24 godz. od ostatniej iniekcji zwierzęta dekapitowano i pobierano do badań histochemicznych wycinki z żołądka i jelita cienkiego (jelita czczego). Materiał do badań histoenzymatycznych był utrwalany w płynie Bakera, natomiast do pozostałych odczynów — w płynie Carnoya. Na przygotowanych skrawkach wykonywano następujące reakcje histochemiczne: 1) na aktywność fosfatazy kwaśnej według Gomoriego, 2) na aktywność fosfatazy zasadowej według Gomoriego, 3) na aktywność G-6-P-azy według Wachsteina i Meisel, 4) na aktywność lipazy z zastosowaniem Tweenu 80 według Gomoriego, 5) reakcją PAS na mukopolisacharydy oraz 6) barwienie przeglądowe hematoksyliną i eozyną.

Reakcje kontrolne dla badanych enzymów przeprowadzano w płynie inkubacyjnym bez odpowiedniego substratu. Natomiast w reakcji PAS stosowano próby kontrolne z diastazą i dimedonem.

WYNIKI BADAŃ

Po podaniu Butapirazolu obserwuje się morfologiczne zmiany w błonie śluzowej żołądka. Dotyczą one nabłonka, którego komórki ulegają deformacji, w mniejszym stopniu gruczołów, gdzie zwiększa się eozynofilność komórek okładzinowych. Zmiany te dotyczą przede wszystkim zwierząt, które otrzymywały duże dawki leku (grupa II dośw.) — ryc. 1, 2.

We wszystkich grupach doświadczalnych nie obserwuje się istotnych różnic w nabłonku jelitowym w porównaniu z kontrolą. Natomiast komórki dna gruczołów jelitowych są bardziej spłaszczone i ich barwność jest słabsza. W dwunastnicy zmniejsza się eozynofilność gruczołów Brunnera (ryc. 3, 4).

Reakcja PAS

Obserwowano wzrost reakcji PAS dodatniej w błonie śluzowej żołądka szczurów grupy I doświadczalnej. Zmiany dotyczą nabłonka i komórek gruczołowych, śluzowych oraz tkanki łącznej leżącej między gruczołami i otaczającej dna gruczołów (ryc. 5, 6). Największy wzrost odczynów występował w żołądku szczurów grupy II doświadczalnej, otrzymujących podwójną dawkę leku. Natomiast w grupie III odczyny były podobne jak w grupie I.

Reakcja PAS dodatnia wzrasta w mukocytach nabłonka i gruczołów

jelitowych. Wzrost reakcji obserwuje się we wszystkich grupach doświadczalnych, lecz powiększenie komórek śluzowych jest największe w grupie III doświadczalnej (ryc. 7, 8).

F o s f a t a z a k w a ś n a

Wzrost intensywności reakcji na aktywność fosfatazy kwaśnej zauważono w gruczołach dna żołądka oraz w jego nabłonku (ryc. 9, 10). Natomiast w błonie śluzowej jelit nie stwierdzono istotnych różnic w odczynach na aktywność fosfatazy kwaśnej.

F o s f a t a z a z a s a d o w a

W grupie I doświadczalnej obserwowano osłabienie aktywności fosfatazy zasadowej w błonie śluzowej żołądka, szczególnie w komórkach nabłonka oraz szczytowych częściach gruczołów; odczyny często były dyfuzyjne. Nie zmieniona aktywność enzymu występowała w komórkach dolnej części gruczołów. Zwiększenie dawki leku (grupa II dośw.) powodowało dalsze obniżenie reakcji enzymatycznej.

Oslabienie odczynów na aktywność fosfatazy zasadowej obserwowano również w nabłonku jelitowym zwierząt grup doświadczalnych, zwłaszcza przy podwójnych dawkach Butapirazolu (ryc. 11, 12). Rąbek oskórkowy pokrywający komórki nabłonkowe był niższy i dawał słabszą reakcję. Również słabe reakcje o charakterze dyfuzyjnym wykazywały komórki gruczołowe. Nie stwierdzono odczynu w mukocytach.

G l i k o z o - 6 - f o s f a t a z a (G-6-P-aza)

W grupach doświadczalnych intensywność reakcji na G-6-P-azę nie ulega zmianie w błonie śluzowej żołądka. Zarówno nabłonek, jak i gruczoły wykazują podobną reakcję jak kontrola.

W nabłonku jelitowym obserwowano wzrost odczynów na aktywność G-6-P-azy, natomiast w gruczołach jelitowych reakcja nie ulega zmianie (ryc. 13, 14).

L i p a z a

W grupie I doświadczalnej odczyn na lipazę ulegał osłabieniu, szczególnie w komórkach nabłonka, mniej w gruczołach jelitowych. Dalsze osłabienie odczynów obserwowano w grupach doświadczalnych II i III (ryc. 15, 16).

Oslabienie odczynu na lipazę wykazano w nabłonku i gruczołach jelitowych grupy I doświadczalnej. Dalsze obniżenie odczynów wykazano w grupie II doświadczalnej przy podawaniu zwierzętom dwukrotnie większej dawki Butapirazolu.

Dehydrogenaza bursztynianowa

Reakcja na aktywność dehydrogenazy bursztynianowej w błonie śluzowej żołądka ulega osłabieniu w porównaniu z kontrolą. Najśłabsze odczyny uzyskano w grupie II, gdzie zwiększono dwukrotnie dawkę leku.

Również w nabłonku i gruczołach jelitowych odczyny na dehydrogenazę bursztynianową są słabsze niż w grupach kontrolnych. Największe różnice uzyskano w grupie II doświadczalnej (ryc. 17, 18).

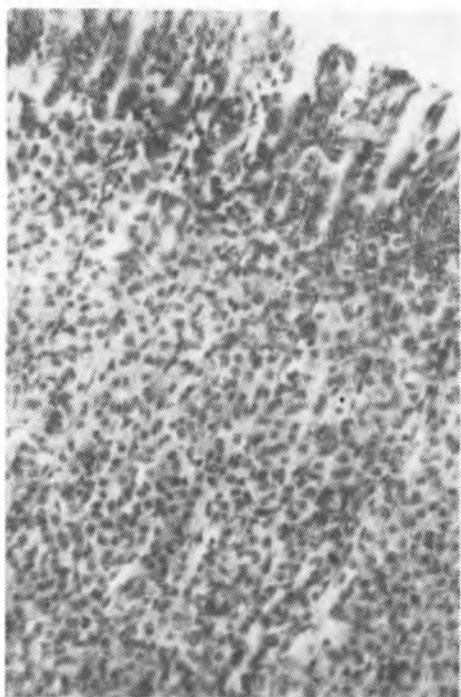
OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ I WNIOSKI

Wśród doniesień o ubocznym działaniu Butapirazolu często podkreśla się jego wpływ na uczynnienie choroby wrzodowej żołądka i dwunastnicy (10). Większość stosowanych leków przeciwreumatycznych wywiera ujemne działanie na błonę śluzową przewodu pokarmowego, prowadzi do uszkodzenia wątroby i nerek (1, 3, 8, 9). Istotne znaczenie ma również odżywianie się w okresie przyjmowania leku i stosowanie go po posiłku.

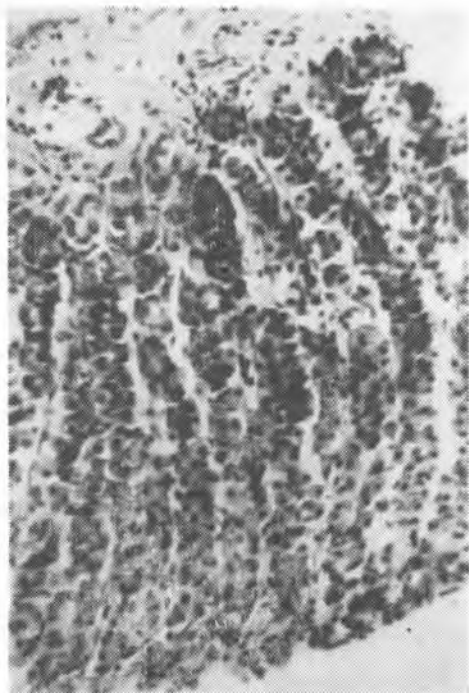
Badania nasze wykazały, że podawanie zwierzętom doświadczalnym Butapirazolu powoduje znaczny wzrost aktywności fosfatazy kwaśnej w nabłonku żołądka i jelita cienkiego. Zmiany te obserwowano szczególnie wyraźnie przy stosowaniu większych dawek leku (grupa II dośw.) oraz przedłużonego podawania Butapirazolu (grupa III dośw.). Wzmoczoną aktywność fosfatazy kwaśnej obserwowano również przy stosowaniu leków przeciwzapalnych i przeciwbólowych (9, 15, 16), co wskazuje, że układ enzymów lizosomalnych odgrywa ważną rolę jako wskaźnik zmian degeneracyjnych komórek przewodu pokarmowego.

Natomiast odczyny na aktywność fosfatazy zasadowej ulegają osłabieniu we wszystkich grupach doświadczalnych, jednak największe zmiany obserwowano w nabłonku jelita cienkiego zwierząt otrzymujących podwójne dawki leku (100 mg dziennie — grupa II dośw.). W rąbku oskórkowym komórek nabłonka jelitowego aktywność fosfatazy zasadowej znacznie maleje, co wskazuje na obniżenie przepuszczalności błon komórkowych oraz osłabienie zdolności resorpcyjnej nabłonka jelitowego, w którym udział fosfatazy zasadowej ma istotne znaczenie.

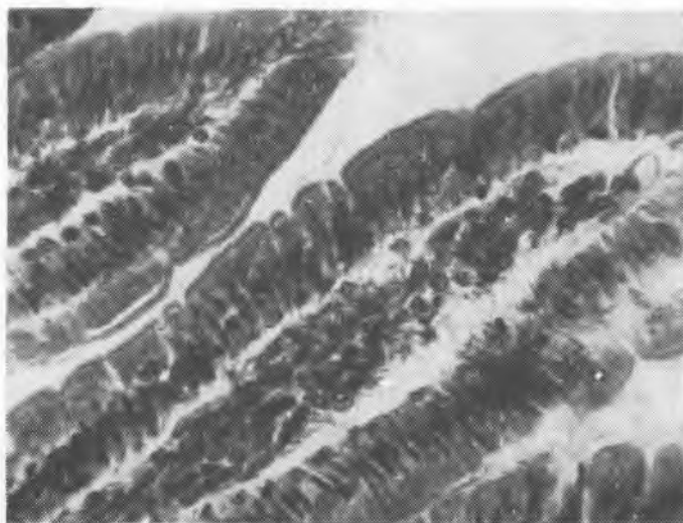
Podobne efekty uzyskano w odczynach na aktywność G-6-P-azy oraz lipazy. Obniżenie aktywności tych enzymów szczególnie wyraźnie wy-



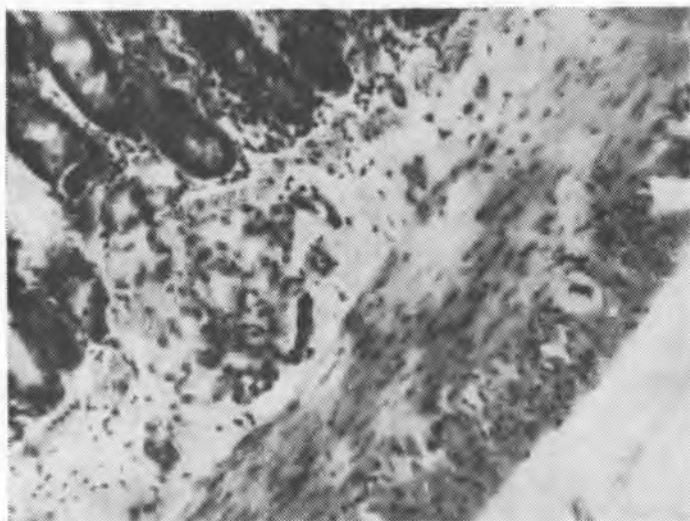
Ryc. 1



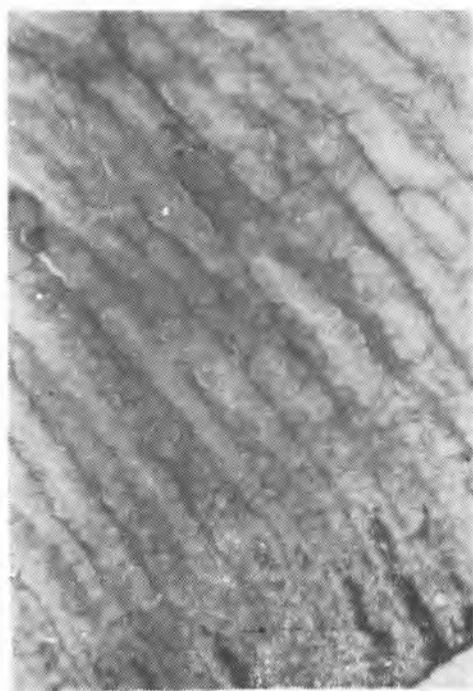
Ryc. 2



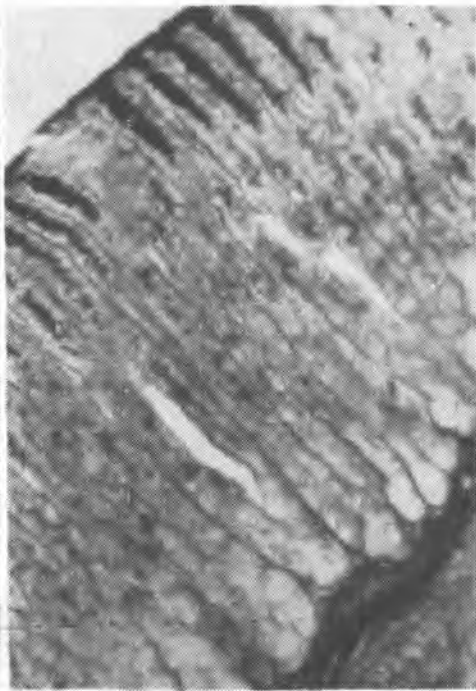
Ryc. 3



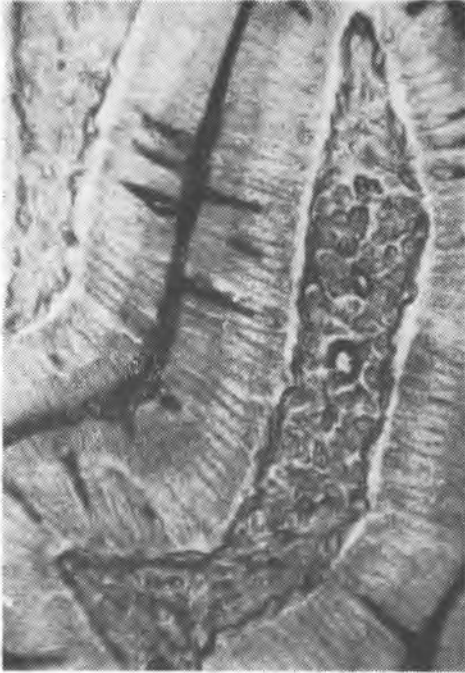
Ryc. 4



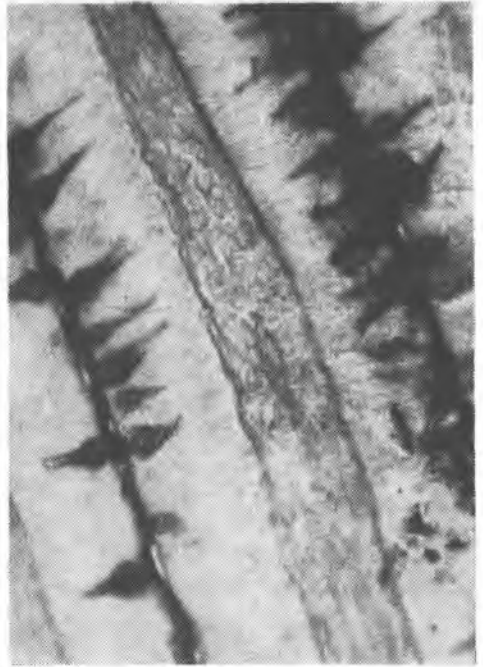
Ryc. 5



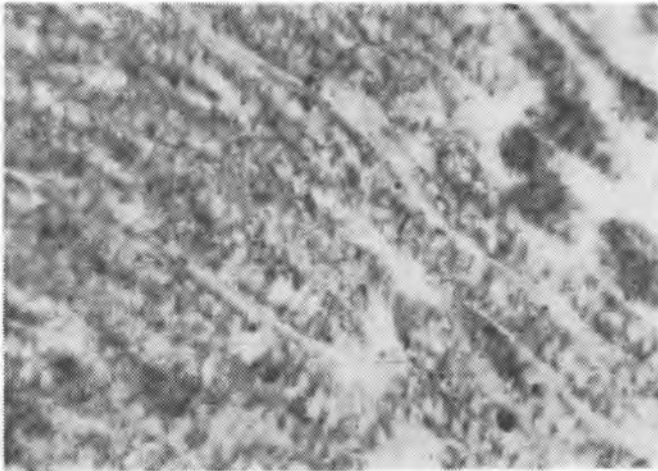
Ryc. 6



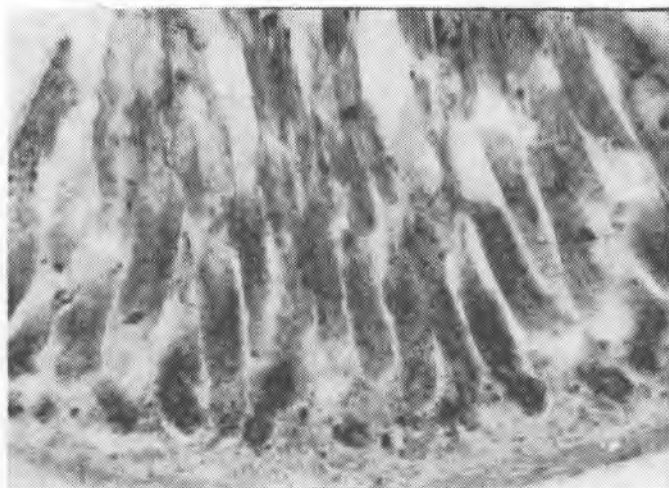
Ryc. 7



Ryc. 8



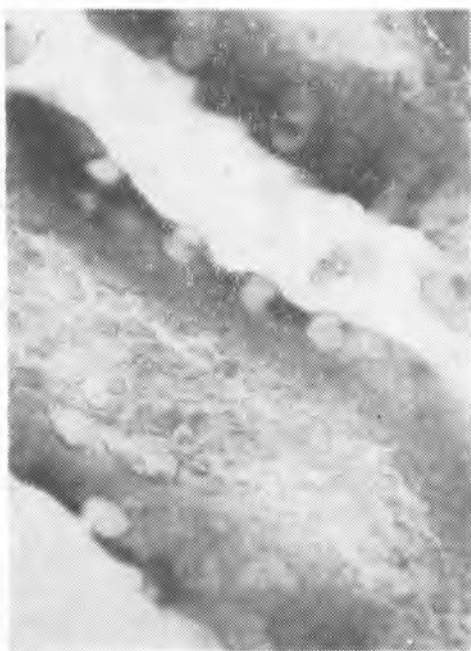
Ryc. 9



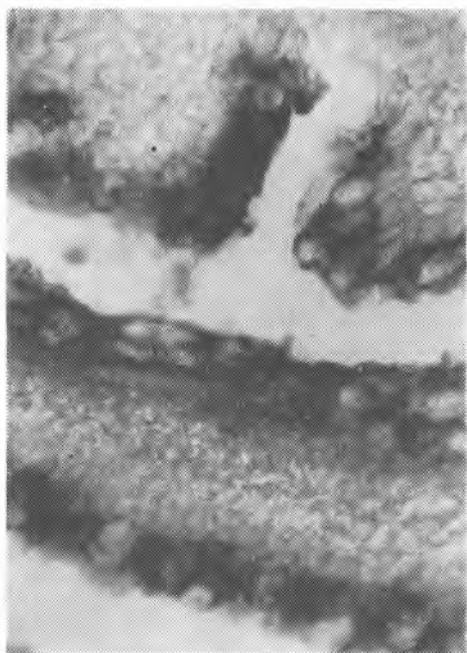
Ryc. 10



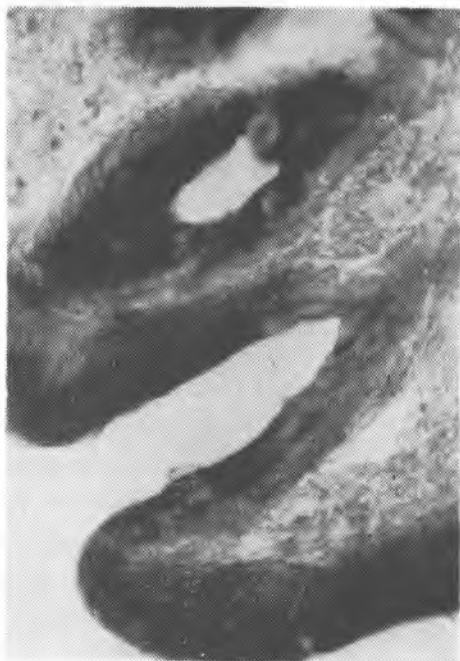
Ryc. 11



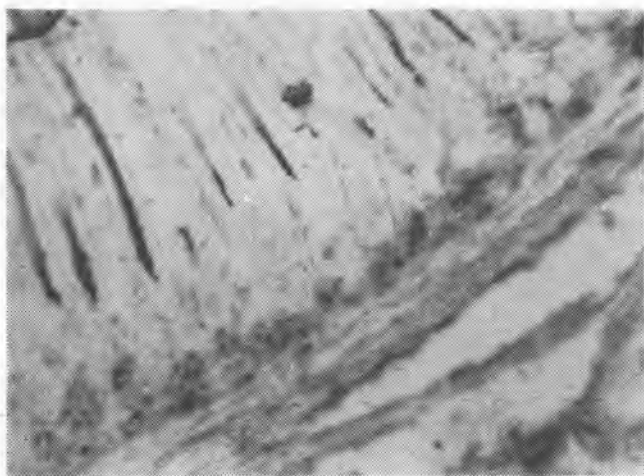
Ryc. 12



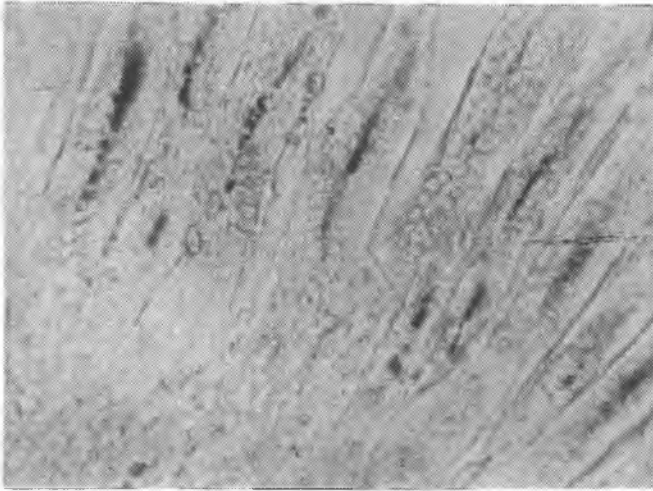
Ryc. 13



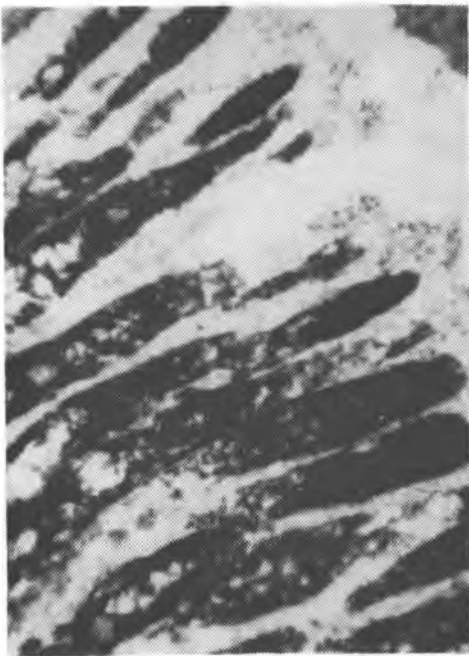
Ryc. 14



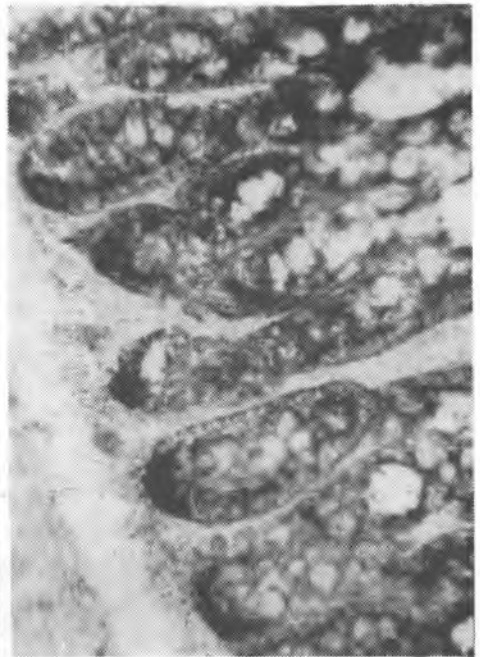
Ryc. 15



Ryc. 16



Ryc. 17



Ryc. 18

stępuje po podaniu zwierzętom wyższych dawek leku (grupa II dośw.), zarówno w nabłonku żołądka, jak i jelita cienkiego. Teutsch (14) wykazał, że G-6-P-aza jest enzymem bardzo wrażliwym na działanie różnych czynników na komórkę.

Obserwowano również zmiany w aktywności dehydrogenazy bursztynianowej u zwierząt przyjmujących Butapirazol. Obniżenie aktywności enzymu wykazano zarówno w nabłonku jelitowym, jak i w nabłonku pokrywającym śluzówkę żołądka. Świadczy to o zahamowaniu szeregu procesów metabolicznych, szczególnie procesów oksydoredukcyjnych przebiegających w komórce.

We wszystkich grupach doświadczalnych obserwowano wzrost reakcji PAS dodatniej. Zwiększa się ilość mukocytów w nabłonku jelitowym oraz wzrasta intensywność odczynów w nabłonku żołądka, jego gruczołach i tkance łącznej. Wyniki te wskazują na zmiany w metabolizmie mukopolisacharydów, powstałe na skutek cytotoksycznego działania Butapirazolu na błonę śluzową i gruczoły przewodu pokarmowego. Giełdanowski (5) zwraca uwagę, że zasadniczą cechą niesterydowych leków przeciwzapalnych, do których należy Butapirazol, jest wywoływanie zmian w obrębie glikoproteidów. Stwierdzenie to jest istotne, gdyż związki te odgrywają podstawową rolę w patofizjologii tkanki łącznej.

Również osłabienie odczynów na RNA w komórkach nabłonka jelitowego szczurów wskazuje na wpływ Butapidazolu na procesy odbudowy i syntezy aminokwasów, podstawowego składnika białek.

Na podstawie uzyskanych wyników należy sądzić, że zmiany w odczynach histochemicznych błony śluzowej przewodu pokarmowego i jego gruczołach, wywołane działaniem Butapirazolu, są uzależnione od wielkości dawki i czasu podawania tego leku.

PIŚMIENNICTWO

1. Blast A.: Use of Brufen in Some Artherheumatic Diseases. *Min. Med.* **64**, 2540, 1973.
2. Carcassi A.: Esperienze cliniche con un nuovo antireumatico non steroideo. *Min. Med.* **63**, 2361, 1973.
3. Chalmers G.: Clinical Experience with Ibuprofen in Rheumateid Arthritis. *Schweiz. Med. Wiss.* **101**, 280, 1971.
4. Dybowski R.: Butapirazol. Wydawn. Przem. Lekkiego i Spoż., Dokumentacja „Polfa” VI/2, 1968.
5. Giełdanowski J.: Współczesne poglądy na patomechanizm zapaleń i działanie niesterydowych leków przeciwzapalnych. *Post. Hig. i Med. Dośw.* **27**, 255, 1973.
6. Jakimowska-Dudzińska K.: Problemy odżywiania w okresie stosowania leków. *Terapia i Leki* **29**, 95, 1979.

7. Kilkowska K., Kozłowska K.: Wpływ kortyzonu i ACTH na zachowanie się niektórych enzymów w komórkach nabłonka i gruczołów dwunastnicy szczura białego. *Folia Morphol. (Warsz.)* **30**, 21, 1971.
8. Lowgren O., Alander E.: Indomethacin and Peptic Ulcer. *Brit. Med.* **1**, 996, 1965.
9. Mackiewicz M.: Farmakologiczne leczenie chorób reumatycznych. *Terapia i Leki* **6**, 193, 1978.
10. Niznikowska-Marks J.: W sprawie toksycznego działania butazolidyny. *Wiad. Lek.* **18**, 1893, 1965.
11. Ośrodek Informacji Naukowej „Polfa” — Butapirazol. 1974.
12. Pawelec W., Lenkowski P.: Butazolidyna. *Pol. Tyg. Lek.* **9**, 55, 1954.
13. Pawełczyk E.: Chemia leków. PZWL, Warszawa 1978, s. 132.
14. Teutsch H. F.: Improved Method for the Histochemical Demonstration of Glucose-6-Phosphatase Activity. *Histochemistry* **57**, 107, 1978.
15. Wawrzyńska-Pręgowska J.: Leczenie farmakologiczne chorób reumatycznych. PZWL, Warszawa 1972.
16. Zawistowski S.: Badania cytochemiczne nad wpływem stanów niedokrzepienia na procesy resorpcyjne w jelicie myszy. *Folia Morphol. (Warsz.)* **11**, 93, 1960.

Otrzymano 23 XI 1982.

OBJAŚNIENIA RYCIN

Ryc. 1. Błona śluzowa żołądka szczura kontrolnego. Barwienie hematoksylina i eozyną. Pow. ok. 200X.

Ryc. 2. Błona śluzowa żołądka szczura grupy II doświadczalnej. Barwienie hematoksylina i eozyną. Pow. ok. 200X.

Ryc. 3. Kosmki jelitowe szczura grupy kontrolnej. Barwienie hematoksylina i eozyną. Pow. ok. 200X.

Ryc. 4. Gruczoły jelitowe i dwunastnicze szczura grupy I doświadczalnej. Barwienie hematoksylina i eozyną. Pow. ok. 200X.

Ryc. 5. Reakcja PAS w błonie śluzowej żołądka zwierząt kontrolnych. Metoda według McManusa. Pow. ok. 200X.

Ryc. 6. Reakcja PAS w błonie śluzowej żołądka szczura grupy III doświadczalnej. Metoda według McManusa. Pow. ok. 200X.

Ryc. 7. Reakcja PAS w kosmkach jelitowych szczura kontrolnego. Metoda według McManusa. Pow. ok. 200X.

Ryc. 8. Reakcja PAS w kosmkach jelitowych szczura grupy III doświadczalnej. Metoda według McManusa. Pow. ok. 200X.

Ryc. 9. Reakcja na aktywność fosfatazy kwaśnej w błonie śluzowej żołądka szczura kontrolnego. Metoda według Gomoriego. Pow. ok. 200X.

Ryc. 10. Reakcja na aktywność fosfatazy kwaśnej w błonie śluzowej żołądka szczura grupy I doświadczalnej. Metoda według Gomoriego. Pow. ok. 200X.

Ryc. 11. Reakcja na aktywność fosfatazy zasadowej w kosmkach jelitowych szczura kontrolnego. Metoda według Gomoriego. Pow. ok. 200X.

Ryc. 12. Reakcja na aktywność fosfatazy zasadowej w kosmkach jelitowych szczura grupy I doświadczalnej. Metoda według Gomoriego. Pow. ok. 200X.

Ryc. 13. Reakcja na aktywność G-6-P-azy w kosmkach jelitowych szczura kontrolnego. Metoda według Wachsteina i Meisel. Pow. ok. 200X.

Ryc. 14. Reakcja na aktywność G-6-P-azy w kosmkach jelitowych szczura grupy II doświadczalnej. Metoda według Wachsteina i Meisel. Pow. ok. 200X.

Ryc. 15. Reakcja na aktywność lipazy w błonie śluzowej żołądka szczura kontrolnego. Metoda według Gomoriego. Pow. ok. 200X.

Ryc. 16. Reakcja na aktywność lipazy w błonie śluzowej żołądka szczura grupy II doświadczalnej. Pow. ok. 200X.

Ryc. 17. Reakcja na aktywność dehydrogenazy bursztynianowej w błonie śluzowej jelita cienkiego szczura kontrolnego. Metoda według Nachiasa i wsp. Pow. ok. 200X.

Ryc. 18. Reakcja na aktywność dehydrogenazy bursztynianowej w błonie śluzowej jelita cienkiego szczura grupy II doświadczalnej. Pow. ok. 250X.

РЕЗЮМЕ

Исследовано влияние Бутапиразола на гистоэнзиматическую активность кислот фосфатазы, щелочной фосфатазы, G-6-P-азы, липазы и сукцинатной дегидрогеназы, а также PAS, положительной субстанции слизистой оболочки желудка и кишки белых крыс. Показано понижение активности щелочной фосфатазы, G-6-P-азы, липазы и сукцинатной дегидрогеназы в эпителии и железах желудка и тонкой кишки после получения Бутапиразола. Реакция PAS показывает значительное понижение PAS положительной субстанции в мукоцитах и понижение активности щелочной фосфатазы в клетках эпителия тонкой кишки. Самые большие изменения наблюдались в слизистой оболочке желудка и тонкой кишки у тех крыс, которые получали большие дозы средства.

SUMMARY

The influence of Butapirazol on histoenzymatic activities of acid phosphatase, alkaline phosphatase, G-6-P-ase, lipase and succinic dehydrogenase as well as on PAS positive substances in the gastric and intestinal mucosa of white rats has been studied. A decrease in the activities of alkaline phosphatase, G-6-P-ase, lipase and succinic dehydrogenase in gastric and intestinal epithelium and in glands was observed after Butapirazol administration. PAS-reaction shows a considerable increase of the PAS positive substances in the mucocytes as well as an increase of alkaline phosphatase activities in the intestinal epithelium cells. Greatest changes were observed in the gastric and intestinal mucosa after the administration of large doses of the drug.

EXPLANATION TO FIGURES

Fig. 1. The gastric mucosa of a control rat. Hematoxyline and eosine staining. Magn. 200X.

Fig. 2. The gastric mucosa of the II-experimental-group rat. Hematoxyline and eosine staining. Magn. 200X.

Fig. 3. The intestinal villi of the control rat. Hematoxyline and eosine staining. Magn. 200X.

Fig. 4. The intestinal and duodenum glands of the I-experimental-group rat. Hematoxyline and eosine staining. Magn. 200X.

Fig. 5. The PAS-reaction in the gastric mucosa of the control rat. The McManus method. Magn. 200X.

Fig. 6. The PAS-reaction in the gastric mucosa of the II-experimental-group rat. The McManus method. Magn. 200X.

Fig. 7. The PAS-reaction in the intestinal villi of the control rat. The McManus method. Magn. 200X.

Fig. 8. The PAS-reaction in the intestinal villi of the III-experimental-group rat. The McManus method. Magn. 200X.

Fig. 9. The reaction to acid phosphatase activity in gastric mucosa of a control rat. The Gomori method. Magn. 200X.

Fig. 10. The reaction to acid phosphatase activity in the gastric mucosa of the I-experimental-group rat. The Gomori method. Magn. 200X.

Fig. 11. The reaction to alkaline phosphatase activity in the intestinal villi of a control rat. The Gomori method. Magn. 200X.

Fig. 12. The reaction to alkaline phosphatase in intestinal villi of the I-experimental-group rat. The Gomori method. Magn. 200X.

Fig. 13. The reaction to G-6-P-ase activity intestinal villi of a control rat. The Wachstein and Meisel method. Magn. 200X.

Fig. 14. The reaction to G-6-P-ase activity in the intestinal villi of the II-experimental-group rat. The Wachstein and Meisel method. Magn. 200X.

Fig. 15. The reaction to lipase activity in the gastric mucosa of a control rat. The Gomori method. Magn. 200X.

Fig. 16. The reaction to lipase activity in the gastric mucosa of the II-experimental-group rat. The Gomori method. Magn. 200X.

Fig. 17. The reaction to succinic dehydrogenase activity in the intestinal mucosa of a control rat. The Nachlas et al. method. Magn. 200X.

Fig. 18. The reaction to succinic dehydrogenase activity in the intestinal mucosa of the II-experimental-group rat. The Nachlas et al. method. Magn. 200X.