

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

Tamara MAJEWSKA, Iwona BEŃ-SKOWRONEK

Wpływ wibramycyny na jelito cienkie szczura

Влияние вибрамыцина на тонкую кишку крысы

The Influence of the Vibramycin on the Small Intestine of the Rat

Doksycyklina (wibramycyna) jest antybiotykiem z grupy tetracyklin o działaniu bakteriostatycznym. Mechanizm jej działania, podobnie jak wszystkich tetracyklin, polega na wiązaniu się z cząsteczkami 30S RNA, co uniemożliwia przekazywanie informacji genetycznej z DNA na rybosomy oraz blokuje wbudowywanie aminokwasów do cząsteczek białka, hamując ich syntezę. Doksycyklina w mniejszym stopniu niż inne tetracykliny wiąże się z jonami dwuwartościowymi wapnia, magnezu i żelaza tworząc nierozpuszczalne kompleksy i dlatego lepiej wchłaniana jest z przewodu pokarmowego (1, 3, 5).

Obserwacje kliniczne wykazują, że często u pacjentów leczonych wibramycyną występują biegunki, wymioty czy nudności. Objawy te mają niewątpliwie związek z dysbakteriozą wywołaną stosowaniem antybiotyku.

Celem naszej pracy było przebadanie błony śluzowej początkowego odcinka jelita cienkiego po stosowaniu doświadczalnych dawek wibramycyny przed upływem terminu ważności oraz tego leku, gdy termin ważności minął.

MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na 3 grupach szczurów rasy Wistar o masie ciała ok. 260 g. W ciągu kolejnych 10 dni zwierzętom podawano dożołądkowo preparat doksycykliny — wibramycynę w postaci zawiesiny w wodzie destylowanej raz na dobę przed porannym karmieniem.

Szczury grupy I doświadczalnej otrzymywały po 8 mg antybiotyku, którego ważność upływa w r. 1991; szczury grupy II doświadczalnej otrzymywały po 8 mg leku przeterminowanego, natomiast zwierzętom kontrolnym podawano po 2 ml wody destylowanej. W czasie 10 dni każde zwierzę doświadczalne otrzymało 80 mg wibramycyny.

Następnego dnia po podaniu ostatniej porcji leku, po dekapitacji zwierząt, pobierano początkowe odcinki jelita cienkiego i utrwalano je w płynie Carnoya, a także w płynie Bakera. Z metod histologicznych stosowano barwienie hematoksyliną i eozyną; metodami histochemicznymi wy-

krywano: aktywność fosfatazy kwaśnej oraz aktywność fosfatazy zasadowej według metody Gomoriego, mukopolisacharydy metodą PAS według McManusa oraz RNA według metody Bracheta. W preparatach zabarwionych metodą Bracheta liczono figury podziałowe w nabłonku jelitowym.

WYNIKI BADAŃ

BADANIA HISTOLOGICZNE

Barwienie hematoksyliną i eozyną

W jelicie cienkim szczurów grupy I doświadczalnej błona śluzowa uległa częściowej destrukcji: nabłonek na powierzchni kosmków całkowicie zanikł, natomiast w gruczołach jelitowych został miejscowo zachowany. W błonie podśluzowej nastąpił rozrost tkanki łącznej wiotkiej, która wniknęła do blaszki właściwej błony śluzowej i wypełniła miejsca po gruczołach jelitowych. W tkance tej znajdowało się wiele komórek o kwasochłonnej cytoplazmie. W błonie mięśniowej właściwej i błonie surowiczej nie zauważono zmian morfologicznych (ryc. 1).

W grupie II doświadczalnej komórki nabłonka kosmków i gruczołów jelitowych wykazywały większą kwasochłonność cytoplazmy w porównaniu z obrazem kontrolnym. Poza tym innych zmian nie obserwowano (ryc. 2).

BADANIA HISTOCHEMICZNE

Fosfataza kwaśna (Fk)

W skrawkach kontrolnych barwną reakcję obserwowano głównie w enterocytach kosmków; nieco słabszą w nabłonku gruczołów jelitowych (ryc. 3). W obrazie jelita zwierząt grupy I i II doświadczalnej odczyn na Fk był znacznie silniejszy, przy czym wiele komórek w zrębie kosmków zareagowało bardzo mocno (ryc. 4).

Fosfataza zasadowa (Fz)

Umiarkowana aktywność występowała w rąbku prążkowanym nabłonka jelitowego zarówno w jelitach kontrolnych, jak i grupy II doświadczalnej (ryc. 5). Nieco słabszy odczyn występował w nabłonku zwierząt grupy I doświadczalnej, szczególnie w enterocytach kosmków. Również w zrębie kosmków u szczurów obu grup doświadczalnych obserwowano komórki z ziarnistościami Gomori-pozytywnymi (ryc. 6).

Odczyn PAS na mukopolisacharydy

U zwierząt kontrolnych w nabłonku kosmków i gruczołów jelitowych wybarwiły się komórki kubkowe oraz śluz pokrywający jego powierzchnię (ryc. 7). W grupie I doświadczalnej komórki kubkowe zareagowały słabiej. Wydawało się, że w nabłonku kosmków jelitowych i gruczołów jelitowych jest ich mniej w porównaniu z obrazem kontrolnym. W okolicach przylegających do zmienionej destrukcyjnie błony śluzowej obserwowano jedynie nieliczne mukocyty (ryc. 8). Także u zwierząt grupy II doświadczalnej mniej było komórek kubkowych w nabłonku jelitowym w porównaniu z jelitem kontrolnym (ryc. 9).

RNA wykrywany metodą Bracheta

U zwierząt grupy kontrolnej w zrębie kosmków obserwowano niewielką liczbę komórek z nagromadzeniem różowo zabarwionych ziarnistości. W nabłonku jelitowym widoczne były liczne figury podziałowe (średnio 17 na 100 enterocytów — ryc. 10).

W grupie I doświadczalnej w zrębie kosmków jelitowych znajdowało się bardzo dużo komórek z wieloma barwnymi ziarnistościami, znacznie więcej niż w jelicie kontrolnym (ryc. 11). W nabłonku jelita natomiast zmniejszyła się liczba figur podziałowych (średnio 6 na 100 komórek).

U szczurów grupy II doświadczalnej w obrębie kosmków jelitowych występowało wiele komórek zawierających w cytoplazmie pironinochłonne ziarnistości. Było ich więcej niż w obrazie kontrolnym, mniej natomiast niż w grupie I doświadczalnej. Bardzo rzadko występowały figury podziałowe (średnio 3 na 100 enterocytów) — ryc. 12.

DYSKUSJA

Wibramycyna jest mniej toksyczna niż inne tetracykliny i dlatego uważana jest za antybiotyk bezpieczny, nadający się do długotrwałego leczenia. Sądzi się, że ewentualne objawy uboczne, obserwowane po długotrwałym podawaniu leku, mają związek z dysbakteriozą, wywołaną stosowaniem preparatu o tak szerokim spektrum działania, oraz rozwojem grzybów w przewodzie pokarmowym. Fizjologicznie w początkowym odcinku jelita cienkiego występuje uboga flora bakteryjna, treść pokarmowa bowiem po przejściu przez żołądek jest jałowa, a środowisko zasadowe w dwunastnicy i duże stężenie soków trawiennych utrudniają rozwój bakterii (1, 4, 5, 6).

W jelicie cienkim szczurów, które otrzymywały wibramycynę, występowały obrazy z destrukcją błony śluzowej, wyrażającą się nieprawidłową budową kosmków i gruczołów jelitowych lub ich zupełnym brakiem. W tkance łącznej wiotkiej, wypełniającej miejsca patologicznie zmienione, obserwowano nacieki

leukocytarne. Podobne zmiany morfologiczne w jelicie cienkim szczura po podaniu leków z grupy tetracyklin obserwowali Lewicki i wsp. (6), porównując je do objawów występujących w celiakii. Znacznie mniejsze uszkodzenia w błonie śluzowej jelita występowały po wibramycynie przeterminowanej, jednak nacieki (głównie z makrofagów) oraz znaczne zmniejszenie liczby figur podziałowych w nabłonku świadczyć mogą o jej negatywnym działaniu.

Badania histochemiczne wykazały, że odczyn na fosfatazę kwaśną wzrastał u szczurów doświadczalnych zarówno w komórkach nabłonka, jak i w zrębie kosmków jelitowych, co, jak wiadomo, związane jest z udziałem lizosomów w procesach detoksykacji. Podobne wyniki po stosowaniu tetracyklin obserwowali również inni autorzy (4, 6).

Aktywność fosfatazy zasadowej uległa niewielkiemu zmniejszeniu u zwierząt grupy I doświadczalnej, nie zmieniła się natomiast po wibramycynie przeterminowanej. W badaniach Wiśniewskiej i wsp. (7) po podawaniu doksy-cykliny aktywność Fz się obniżała. Sądzi się na ogół, że stan taki może być spowodowany hamowaniem fosforylacji, mechanizm bowiem działania doksy-cykliny polega na zahamowaniu biosyntezy białek bakterii i procesów fosforylacji. Jednak Lewicki i wsp. (6) po podaniu tetracyklin żadnych zmian w odczynie na Fz nie obserwowali.

Reakcja na mukopolisacharydy uwidoczniła mniejszą liczbę komórek śluzowych (kubkowych), natomiast wykrywanie RNA wykazało znaczne zmniejszenie liczby figur podziałowych w nabłonku jelitowym. Sądzymy, że obie te reakcje mają związek z różnicowaniem się nabłonka jelitowego. Macierzyste komórki nabłonka, występujące w kryptach jelitowych, uznawane są za niezróżnicowane komórki multipotencjalne, działanie więc antybiotyku mogło spowodować pewne zahamowanie ich rozwoju, co dotyczyłoby zarówno enterocytów, jak i komórek śluzowych. Badania Bożkovej i wsp. (2) wykazały, że aktywność dwusacharydaz w śluzówce jelita szczura po podaniu tetracyklin może się zmniejszyć nawet o 60%. Pod wpływem działania wibramycyny obserwowano również zmniejszenie zabarwienia w reakcji PAS. W wyniku badań stwierdzono, że wibramycyna, podobnie jak inne antybiotyki z grupy tetracyklin, hamuje biosyntezę białek, a także działa na komórki ustroju, powodując zaburzenia metaboliczne prowadzące do wystąpienia wielu skutków ubocznych. Natomiast po upływie terminu ważności lek ten nie powoduje wprawdzie destrukcji błony śluzowej, wpływa jednak na znaczne zmniejszenie liczby komórek dzielących się w nabłonku jelitowym.

PIŚMIENNICTWO

1. Alestig K.: Studies on the Excretion of Doxycykline in Patiens with Ileostomies. Scand. J. Infect. Dis. Suppl. 9, 23, 1976.
2. Bożkowa K., Bardoń A.: Wpływ tetracyklin na aktywność dwusacharydaz w śluzówce jelita szczura. [w:] Uboczne działanie tetracyklin ze szczególnym uwzględnieniem wpływu na przewod

- pokarmowy. Materiały z Konferencji Naukowej 12 VI 1975. Instytut Matki i Dziecka w Warszawie, PZWL, Warszawa 1976.
3. Danysz A. i wsp.: Podstawy chemioterapii. PZWL, Warszawa 1983.
 4. Figurski R. i wsp.: Wpływ wibramycyny na odnowę i różnicowanie nabłonka jelita cienkiego szczurów. [w:] Materiały Zjazdowe IX Zjazdu Polskiego Towarzystwa Patologów. Kraków 1983.
 5. Höjer H., Wetzlerfors J.: Concentration of Doxycycline in Bowel Tissue and Postoperative Infections. *Scand. J. Infect. Dis. Suppl.* **9**, 100, 1976.
 6. Lewicki Z. i wsp.: Badania histologiczne, histochemiczne i mikroskopowo-elektronowe błony śluzowej dwunastnicy szczurów otrzymujących tetracykliny. [w:] Uboczne działanie tetracyklin ze szczególnym uwzględnieniem wpływu na przewod pokarmowy. Materiały z Konferencji Naukowej 12 VI 1975. Instytut Matki i Dziecka w Warszawie, PZWL, Warszawa 1976.
 7. Wiśniewska J. E., Gawlik Z.: The Effect of Doxycycline on the Intestinal Alkaline Phosphatase (EC 3.1.2.1) Activity in Rat. A Quantitative Study. *Folia Histochem. Cytobiol.* **26** (3), 153, 1988.

Otrzymano 1989.04.15.

OBJAŚNIENIA RYCIN

Ryc. 1. Jelito cienkie szczura grupy I doświadczalnej. Barwienie hematoksyliną i eozyną. Pow. ok. 200 x.

Ryc. 2. Jelito cienkie szczura grupy II doświadczalnej. Barwienie hematoksyliną i eozyną. Pow. ok. 200 x.

Ryc. 3. Aktywność fosfatazy kwaśnej w jelicie cienkim szczura grupy kontrolnej. Metoda Gomoriego. Pow. ok. 200 x.

Ryc. 4. Aktywność fosfatazy kwaśnej w jelicie cienkim szczura grupy I doświadczalnej. Metoda Gomoriego. Pow. ok. 200 x.

Ryc. 5. Aktywność fosfatazy zasadowej w jelicie cienkim szczura grupy I doświadczalnej. Metoda Gomoriego. Pow. ok. 200 x.

Ryc. 6. Aktywność fosfatazy zasadowej w jelicie cienkim szczura grupy II doświadczalnej. Metoda Gomoriego. Pow. ok. 200 x.

Ryc. 7. Mukopolisacharydy w jelicie cienkim szczura grupy kontrolnej. Metoda PAS według McManusa. Pow. ok. 200 x.

Ryc. 8. Mukopolisacharydy w jelicie cienkim szczura grupy I doświadczalnej. Metoda PAS według McManusa. Pow. ok. 100 x.

Ryc. 9. Mukopolisacharydy w jelicie cienkim szczura grupy II doświadczalnej. Metoda PAS według McManusa. Pow. ok. 200 x.

Ryc. 10. Aktywność RNA w jelicie cienkim szczura grupy kontrolnej. Metoda Bracheta. Pow. ok. 200 x.

Ryc. 11. Aktywność RNA w jelicie cienkim szczura grupy I doświadczalnej. Metoda Bracheta. Pow. ok. 200 x.

Ryc. 12. Aktywność RNA w jelicie cienkim szczura grupy II doświadczalnej. Metoda Bracheta. Pow. ok. 200 x.

РЕЗЮМЕ

Исследования проведено на крысах породы Вистар. Одна группа животных получала в течении 10 дней вибрамьцин перед истечением срока годности, вторая группа получала простроченный вибрамьцин. Тонкая кишка крысы была подвергнута гистологическому (Г+Э) и гистохимическому (кислая и щелочная фосфатазы, мукополисахариды, РНА) исследованиям. Подсчитано также разделительные фигуры в кишечном эпителии.

Установлено, что активность кислой фосфатазы и РНА возростала у животных, получающих вибрамыцин перед истечением срока годности. Слабее, чем в контрольной кишке, реагировали мукополисахариды и щелочная фосфатаза. Слизистая оболочка кишки проявляла значительную деструкцию. После вибрамыцина уменьшалось количество разделительных фигур в клетках кишечного эпителия, прежде всего после введения просроченного вибрамыцина.

SUMMARY

The experiments were carried out on the rats of Wistar race. One group administered vibramycin before expiration date for 10 days. Another group was given outdated vibramycin for the same period of time. The small intestine was examined histologically (hematoxylin and eosin) and histochemically (acid phosphatase, alkaline phosphatase, mucopolysaccharides, RNA). Division figures in small intestine epithelium were also counted.

It was found out that the activity of acid phosphatase and RNA was increasing in animals obtaining vibramycin before expiration date. Mucopolysaccharides and alkaline phosphatase reacted weaker than in the control intestine. The intestinal mucosa showed considerable destruction. In both cases the number of division figures in the cells of small intestine epithelium decreased, particularly after administration of expired vibramycin.

EXPLANATION TO FIGURES

Fig. 1. The small intestine of the rat from experimental group I. Staining with hematoxylin and eosin. Magn. ca 200 x.

Fig. 2. The small intestine of the rat from experimental group II. Staining with hematoxylin and eosin. Magn. ca 200 x.

Fig. 3. Acid phosphatase activities in the small intestine of the rat control group. Gomori's method. Magn. ca 200 x.

Fig. 4. Acid phosphatase activities in the small intestine of the rat experimental group I. Gomori's method. Magn. ca 200 x.

Fig. 5. Alkaline phosphatase activities in the small intestine of the rat experimental group I. Gomori's method. Magn. ca 200 x.

Fig. 6. Alkaline phosphatase activities in the small intestine of the rat experimental group II. Gomori's method. Magn. ca 200 x.

Fig. 7. Mucopolysaccharides activities in the small intestine of the rat control group. PAS method (McManus). Magn. ca 200 x.

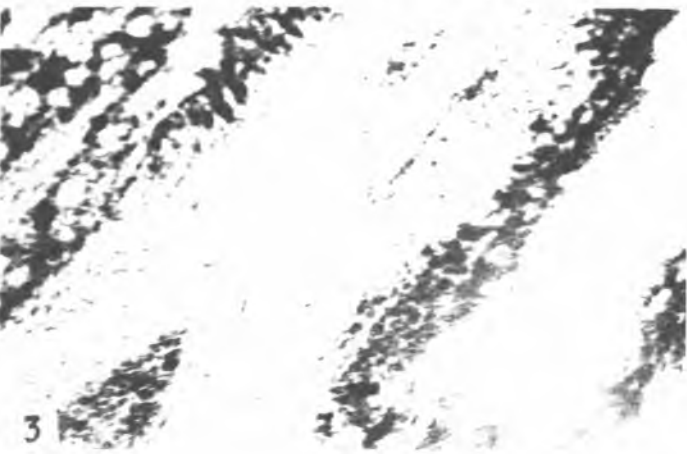
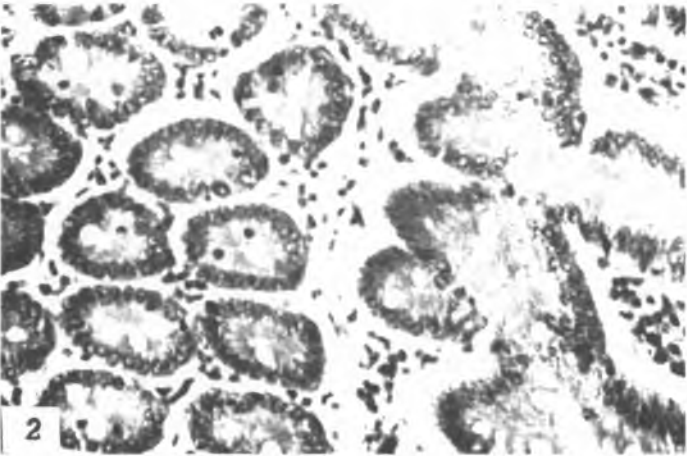
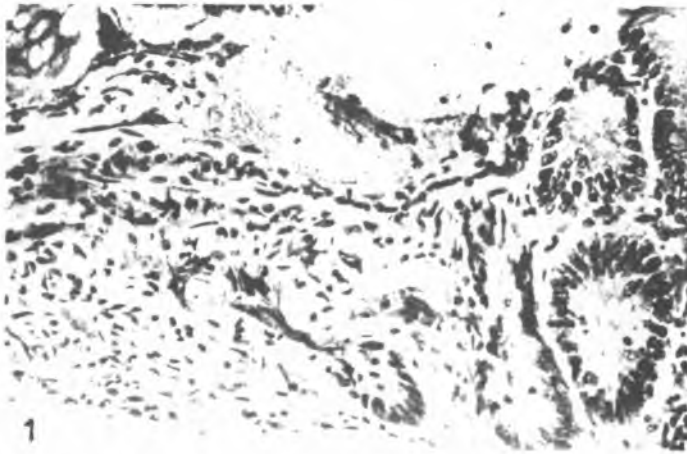
Fig. 8. Mucopolysaccharides activities in the small intestine of the rat experimental group I. PAS method (McManus). Magn. ca 100 x.

Fig. 9. Mucopolysaccharides activities in the small intestine of the rat experimental group II. PAS method (McManus). Magn. ca 200 x.

Fig. 10. RNA activities in the small intestine of the control group. Brachet method. Magn. ca 200 x.

Fig. 11. RNA activities in the small intestine of the rat experimental group I. Brachet method. Magn. ca 200 x.

Fig. 12. RNA activities in the small intestine of the rat experimental group II. Brachet method. Magn. ca 200 x.



Tamara Majewska, Iwona Beń-Skowronek



Tamara Majewska, Iwona Beń-Skowronek



Tamara Majewska, Iwona Beń-Skowronek

