

ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN — POLONIA

VOL. XIX, 24

SECTIO D

1964

Katedra i Zakład Histologii i Embriologii, Wydział Lekarski. Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: prof. dr Stanisław Grzycki

Krystyna CZERNY i Józef STASZYC

**Badania cytologiczne i cytochemiczne kanalików głównych nerki
kompensacyjnie przerosłej**

**Цитологические и цитохимические исследования главных отделов
нефрона почки компенсативно гипертрофированной**

**Cytological and Cytochemical Experiments on the Principal Tubules
of a Vicariously Hypertrophied Kidney**

Ponieważ najczulszym wykładnikiem metabolizmu tkanki jest aktywność enzymów wewnątrzkomórkowych (2, 9), postanowiono, badając nerkę kompensacyjnie przerosłą, prześledzić odczyny histochemiczne na niektóre hydrolazy. Szczególną uwagę zwrócono na aktywność enzymów hydrolitycznych w tzw. strefie Golgiego, przy czym zwrócono uwagę na morfologiczną okresowość przemian struktur Golgiego w komórkach.

MATERIAŁ I METODYKA

Szczury białe, ośmiomiesięczne samce wagi ca 170 g operowano w ogólnym znieczuleniu, usuwając lewą nerkę. Równocześnie u zwierząt, które stanowiły materiał kontrolny, wykonywano laparotomię próbną. Pozostawioną nerkę pobierano do badań w różnym czasie od chwili operacji. Aktywność fosfatazy kwaśnej wykrywano wg metody Gomoriego w pH 5,4, fosfatazy zasadowej wg metody CoS w pH 9,4 (12), 5-nukleotyduzy i adenozynotrójfosfatazy wg metody Wachstein-Meisel w pH 7,2 (13). Esterazy niespecyficzne wykazywano w pH 6,5 używając jako substratu octanu naftolu AS. Czas inkubacji dla poszczególnych hydrolaz wynosił: fosfataza kwaśna 45 min., fosfataza zasadowa, 5-nukleotyduza i adenozynotrójfosfatazy 30 min., esterazy niespecyficzne 15 min. Struktury Golgiego impregnowano wg metod Cajala, Da Fano, Aoyamy, Srivastawy.

BADANIA WŁASNE

A. Struktury Golgiego.

Na preparatach kontrolnych struktury Golgiego występowały w kształcie ziarenek lub niteczek w sąsiedztwie jąder komórkowych. Po 1 godzinie od chwili operacji zbita siateczka Golgiego ulegała rozluźnieniu i przesunęła się w kierunku szczytu komórki. Pojawiły się liczne ciała sferoidalne (ryc. 7), których większość umiejscowiona była bliżej światła kanalika. Po 12 godz. od chwili operacji (ryc. 8), drobne i mało wyczernione elementy aparatu Golgiego były rozrzucone pomiędzy podstawą komórki a jądrem. Nie obserwowano tworzenia niteczek. W dalszych grupach znajdowano obrazy bardzo różnorodne: w kanalikach o wysokich komórkach systemów Golgiego było bardzo niewiele, w kanalikach o nabłonku niższym widzieliśmy silniej wyczernione struktury Golgiego. Umiejscowienie tych elementów wykazywało także duże zróżnicowanie. W większości komórek strefa Golgiego otaczała jądro w płaszczyźnie równikowej lub też ziarnistości Golgiego znajdowały się poniżej jądra blisko podstawy komórki.

B. Odczynny histochemiczne na hydrolazy.

Fosfataza kwaśna (FK). Na preparatach kontrolnych (ryc. 1) lizosomy układały się wokół jąder w strefie Golgiego. Po 12 godz. od chwili operacji najżywszy odczyn na FK widziano w strefie Golgiego w komórkach kanalików głównych nefronów podtorebkowych (ryc. 2), natomiast w nefronach przyrdzennych wystąpiło wyraźne zmniejszenie aktywności enzymu. Następane 12 godz. nie przyniosło widocznych zmian. Po 3 dniach obserwowano zmniejszenie się różnicy aktywności FK w nefronach podtorebkowych i przyrdzennych, a po jednym tygodniu kanaliki główne w całej szerokości kory wykazywały silną, wzmożoną aktywność FK. Po 2 i 3 tygodniach (ryc. 3) wykazano najwyższą aktywność enzymu i największą ilość dużych lizosomów w strefie Golgiego komórek kanalików głównych nefronów przyrdzennych. Komórki tych kanalików były wysokie i miały duże, okrągłe jądra. W nefronach podtorebkowych odczyn na FK był także silny, lecz nieco mniej intensywny w porównaniu z okolicą przyrdzenną. Po 4, 5, 6 i 7 tygodniach obrazy nie różniły się od znajdujących po 3 tygodniach.

Fosfataza zasadowa (FZ). Po 12 godz. od chwili operacji FZ występowała w rąbku szczoteczkowym kanalików, przy czym większą aktywność wykazywały nefrony przyrdzenne. Po 24 godz. rąbek szczoteczkowy kanalików podtorebkowych był nieco wyższy. Po 3 dniach (ryc. 4) obserwowano dalsze zwiększenie aktywności FZ w nefronach podtoreb-

kowych. Po 1 i 2 tygodniach obraz odpowiadał spotykanemu po 3 dniach od chwili operacji. Po 3, 4, 5, 6 i 7 tygodniach zauważono ogólnie wzmożoną aktywność FZ, zwłaszcza w bardzo wysokim rąbku szczoteczkowym kanalików przyrdzennych.

5-Nukleotydaza (5N). W obrazach kontrolnych, a także w nerce przerosłej nie stwierdzono zgodności rozmieszczenia ziarnistego odczynu na 5N z umiejscowieniem strefy Golgiego. W niektórych komórkach była ona wolna od 5N, w innych wykryto tu obecność enzymu. Po 12 godz. przerostu nie wystąpiły żadne różnice. Po 24 godz. (ryc. 5) intensywność odczynu w rąbku szczoteczkowym kanalików podtorebkowych zwiększyła się nieco. Obraz ten nie zmienił się po 3 dniach i 1 tygodniu. Po 2 tygodniach obserwowano w całej korze zwiększoną aktywność 5N. Dalsze okresy (3, 4, 5, 6 i 7 tygodni) charakteryzowała wysoka aktywność 5N w rąbku szczoteczkowym nefronów przyrdzennych. Kanaliiki główne nefronów podtorebkowych wykazywały fizjologiczną aktywność enzymu.

Adenozynotrójfosfatazy (ATPazy). W obrazach kontrolnych nie obserwowano różnic aktywności ATP-az w nefronach podtorebkowych i przyrdzennych, ani ścisłej zależności morfologicznej ze strefą Golgiego. Po 12 godz. (ryc. 6) wystąpił wzrost aktywności ATPaz zwłaszcza w rąbku szczoteczkowym i w błonie podstawowej nefronów podtorebkowych. To samo występowało po 24 godz., 3 dniach i 1 tygodniu. Po 2 tygodniach i w dalszych grupach aktywność ATPaz była wysoka, lecz niższa niż po 1 tygodniu przerostu kompensacyjnego od chwili operacji.

Esterazy niespecyficzne (EN). Po 12 godz. wystąpił wzrost aktywności EN w nabłonku wszystkich kanalików głównych. Stan ten utrzymał się do 2 tygodnia — w dalszych grupach aktywność zmniejszyła się nieco, choć nadal pozostawała wysoka. W strefie Golgiego wysokich komórek spotykano dużo EN. Kanaliiki o nabłonku niższym zawierały mniej aktywnych EN.

OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ

Komórki kanalików głównych zmieniają swą budowę w zależności od stanu czynnościowego (1, 11) w procesie wydzielania są one niskie, a w spoczynku wysokie. Badając aparat Golgiego zwrócono uwagę, że w pierwszym okresie przerostu kompensacyjnego występuje przemiana ziarenek Golgiego w ciała systemowe oraz przemieszczanie ich w kierunku światła kanalika. Rozrost internum w pierwszej fazie badania dowodzi, że struktury Golgiego mają związek z procesami wydzielniczymi zachodzącymi w komórkach. Na możliwość tę zwrócili uwagę

w swych badaniach Grzycki (5, 6, 7, 8) i Zawistowski (14). W nerce kontrolnej umiejscowienie oraz stopień zróżnicowania systemu Golgiego nie zawsze były jednakowe. Różnorodność obrazów należy tłumaczyć stanem fizjologicznym nefronów, ponieważ w warunkach prawidłowych czynna jest zaledwie ich część (10). Obraz ulega ujednoczeniu wraz z przerostem nerki. W końcowych fazach doświadczenia struktury Golgiego zredukowane były do pojedynczych ziarenek i układały się w przypodstawnej strefie komórki. Obserwowano początkowo wzrost poszczególnych struktur Golgiego, następnie ich rozpad i pojawienie się przypuszczalnie nowej presubstancji. Zmianom tym towarzyszyło przemieszczanie struktur Golgiego. Można sądzić, że struktury Golgiego pozostają w związku z wydzielaniem moczu przez nabłonek kanalików. Zmiany najbardziej intensywne zachodzą w pierwszych stadiach przerostu kompensacyjnego nerki, potem występuje pewna stabilizacja i równowaga istniejącego stanu.

Frank (4) udowodnił, że przerost nerek jest wynikiem nie tylko powiększenia się komórek, lecz występuje także z powodu wzrostu ilości komórek w nefronach. Przerost ten dotyczy przede wszystkim komórek kanalików głównych. W obecnej pracy stwierdzono, że przerostowi wyrównawczemu nerki towarzyszy zmiana aktywności wewnątrzkomórkowych hydrolaz. Aktywność fosfatazy kwaśnej w pierwszych godzinach zwiększyła się zwłaszcza w nabłonku kanalików głównych nefronów podtorebkowych. Nefrony te są przede wszystkim odpowiedzialne za prawidłowe wydzielanie moczu (3). W pierwszym okresie po operacji komórki kanalików pozostawionej nerki wykonują z pewnością większą pracę. Tym tłumaczyć można obserwowany przerost lizosomów. Następną fazą przerostu (7, 14 dni) łączy się ze wzmożoną aktywnością fosfatazy kwaśnej na całym przekroju kory nerki, a następnie, gdy objętość nerki znacznie wzrosła (po 3 tygodniach), obserwowano fizjologiczną aktywność fosfatazy kwaśnej w całej korze z zaakcentowanym silnym odczynem w komórkach kanalików przyrdzennych. Nefrony te, których pętle Henlego otoczone są przez naczynia proste (światło ich jest szersze niż światło włosniczek korowych), mają szczególnie dobre warunki wchłaniania płynów do krwi. Możemy więc przypuszczać, że w późniejszych okresach badania wzmożło się wchłanianie zwrotne z moczu pierwotnego.

Aktywność fosfatazy zasadowej wykazała podobne, charakterystyczne zmiany. Już po 24 godz. obserwowano wyższy rąbek szczoteczkowy, zwłaszcza w nefronach podtorebkowych, a od 3 tygodni — wzrost aktywności w nefronach przyrdzennych.

Aktywność 5-nukleotydu wiąże się także z wysokością rąbka szczoteczki, a ponieważ rąbek zwłaszcza w nefronach podtorebkowych wraz z przerostem nerki powiększa się, być może wzmożenie aktywności 5-nukleotydu jest po prostu związane z rozwojem tej morfologicznej struktury.

Zmiany aktywności adenozynotrójfosforaz i esteraz niespecyficznych były analogiczne do obserwowanych zmian aktywności fosforazy kwaśnej i zasadowej. Interesującym wydaje się zjawisko wzmożenia aktywności adenozynotrójfosforaz w pierwszych okresach przerostu, zwłaszcza w błonach podstawowych nefronów podtorebkowych, co świadczy o czynnym udziale błony podstawowej w funkcji kanalików nerki.

Obserwując okresowość zmian aktywności enzymów hydrolitycznych, można było zauważyć, że dopóki praca nie dostosowanej jeszcze, małej nerki musiała zastąpić pracę dwóch nerek, aktywność enzymów zwłaszcza w nefronach podtorebkowych była szczególnie wzmożona. Wraz ze wzrostem ilości i wielkości komórek i powiększeniem się całego narządu (od 3 tygodnia po operacji), intensywność odczynów na enzymy hydrolityczne zmniejszyła się nieco. Oglądane obrazy przypominały spotykane w warunkach kontrolnych, ze szczególnym zaakcentowaniem czynności enzymów w kanalikach głównych nefronów przyrdzennych.

W n i o s k i

1. W kanalikach głównych nerki kompensacyjnie przerosłej zmienia się obraz struktur Golgiego i aktywność enzymów hydrolitycznych.
2. Najbardziej intensywne zmiany występują w pierwszych okresach przerostu i dotyczą zwłaszcza nefronów podtorebkowych.
3. W późniejszych okresach przerostu występują obrazy zbliżone do spotykanych w stanie prawidłowym. Najżywsze odczyny wykazują komórki kanalików głównych nefronów przyrdzennych, co świadczyć może o wzmożonym wchłanianiu zwrotnym w tym okresie.

PIŚMIENNICTWO

1. Addis T., Lew W.: *J. Exp. Med.*, **71**, 325—333, 1940.
2. Czerny K.: *Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Lublin, Sec. D*, **18**, 21—51, 1963.
3. Fejgin M.: *Choroby nerek w klinice chorób wewnętrznych*. PZWL, Warszawa 1959.
4. Franck G.: *Arch. Biol.* **71**, 489—525, 1960.
5. Grzycki S.: *Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Lublin, Sec. D*, **6**, 279—322, 1951.
6. Grzycki S.: *Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Lublin, Sec. D*, **7**, 285—300, 1952.

7. Grzycki S.: Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska. Lublin. Sec. D, **8**, 193—231, 1953.
8. Grzycki S.: Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska. Lublin. Sec. D, **11**, 145—152, 1956.
9. Novikoff A. D.: Folia Morph. **21**, 255—279, 1962.
10. Orłowski W.: Nauka o chorobach wewnętrznych. Lek. Instytut Nauk. Wyd. Warszawa 1948.
11. Rollason H. D.: Anat. Rec. **104**, 263—285, 1949.
12. Vorbrodt A.: Folia Morph. **4**, 271—280, 1956.
13. Wachstein M., Meisel E.: Am. J. Clin. Pathol. **27**, 13—23, 1957.
14. Zawistowski S.: Folia Morph., **5**, 115—128, 1954.

OBJAŚNIENIA RYCIŃ

Ryc. 1. Przyrdzenna część kory nerki nieprzerosniętej. Reakcja na fosfatazę kwaśną. Pow. 250 ×.

Ryc. 2. Podtorebkowa część kory nerki po 12 godz. przerostu. Zwiększenie aktywności fosfatazy kwaśnej. Pow. 250 ×.

Ryc. 3. Przyrdzenna część kory nerki po 3 tygodniach przerostu. Wysoka aktywność fosfatazy kwaśnej w przerosłych kanalikach. Pow. 250 ×.

Ryc. 4. Podtorebkowa część kory nerki po 3 dniach przerostu. Duża aktywność fosfatazy zasadowej w rąbku szczoteczkowym. Pow. 250 ×.

Ryc. 5. Podtorebkowa część kory nerki po 24 godz. przerostu. Silny odczyn na 5-nukleotydazę. Pow. ca 250 ×.

Ryc. 6. Podtorebkowa część kory nerki po 12 godz. przerostu. Zwiększona aktywność ATPaz w błonach podstawowych i w rąbku szczoteczkowym. Pow. 250 ×.

Ryc. 7. Podtorebkowa część kory nerki po 1 godz. przerostu. Impregnacja wg Cajala. Widoczne liczne ciała systemowe z dobrze rozwiniętym Golgi internum i externum. Pow. 1000 ×.

Ryc. 8. Podtorebkowa część kory nerki po 12 godz. przerostu. Pojedyncze ziarenka Golgiego umiejscowione w podstawowych częściach komórki. Pow. 1000 ×.

РЕЗЮМЕ

Были исследованы элементы Гольджи и гистохимические реакции на некоторые гидролазы в почках компенсативно гипертрофированных. Сначала гипертрофии — элементы Гольджи увеличиваются и активность гидролаз изменяется. Со временем реакции на гидролазы остаются похожими на встречавшиеся в нормальных условиях.

Рис. 1. Примозговая часть несросшейся почечной коры. Реакция на кислую фосфатазу. Увелич. 250 ×.

Рис. 2. Подкапсулярная часть почечной коры после 12 часов перероста. Увеличение активности кислой фосфатазы. Увелич. 250 ×.

Рис. 3. Примозговая часть почечной коры после трех недель перероста. Высокая активность кислой фосфатазы в перерослых трубочках. Увелич. 250 ×.

Рис. 4. Подкапсулярная часть почечной коры после трех дней перероста. Большая активность щелочной фосфатазы в щеточной каемке. Увелич. 250 ×.

Рис. 5. Подкапсулярная часть почечной коры после 12 часов перероста. Большая реакция на 5-нуклеотидазу. Увелич. 250 X.

Рис. 6. Подкапсулярная часть почечной коры после 12 часов перероста. Увеличение активности АТ фаз в базальных мембранах и щеточной каемке. Увелич. 250 X.

Рис. 7. Подкапсулярная часть почечной коры после одного часа перероста. Импрегнация по Рамону и Каялу. Многие системовые тела с хорошо развитой Гольджи-интернум и экстернум. Увелич. 1000 X.

Рис. 8. Подкапсулярная часть почечной коры после 12 часов перероста. Единичные зерна Гольджи, локализованные в базальных частях клеток. Увелич. 1000 X.

SUMMARY

The Golgi apparatus and the reactions to some of the hydrolases were observed in the vicariously hypertrophied kidneys. In the first stages of hypertrophy the Golgi structures are enlarged and the enzymatic activity is subject to various changes. With the lapse of time, however, the reactions to hydrolases tend to become normal.

EXPLANATIONS OF FIGURES

Fig. 1. Paramedullary cortical portion of the non-hypertrophied kidney. Magn. 250 X.

Fig. 2. Subcapsular portion of the cortex after 12 hours of hypertrophy. Increase in the acid phosphatase activity. Magn. 250 X.

Fig. 3. Paramedullary portion of the renal cortex after 3 weeks of hypertrophy. High acid phosphatase activity in hypertrophied canaliculi. Magn. 250 X.

Fig. 4. Subcapsular portion of renal cortex after 3 days of hypertrophy. High alkaline phosphatase activity in the brush border. Magn. 250 X.

Fig. 5. Subcapsular portion of renal cortex after 24 hours of hypertrophy. Strong reaction to 5-nucleotidase. Magn. 250 X.

Fig. 6. Subcapsular portion of renal cortex after 12 hours of hypertrophy. Increased activity of ATPs in the basal membranes and brush border. Magn. 250 X.

Fig. 7. Subcapsular portion of renal cortex after 1 hour of hypertrophy. Impregnation after Ramon and Cajal. Numerous systemic bodies with the well developed Golgi *internum* and *externum*. Magn. 1000 X.

Fig. 8. Subcapsular portion of the renal cortex after 12 hours of hypertrophy. Single Golgi granules localized in basal portions of the cells. Magn. 1000 X.

Pracę otrzymano 15 VI 1963.



