

Celem pracy jest obserwacja aktywności adenozyntrójfosfatazy, 5'nukleotydu, pirofosfatazy tiaminowej oraz fosfatazy kwaśnej i zasadowej w części korowej nerek szczurów, którym podawano alkohol etylowy, a następnie Catergen.

MATERIAŁ I METODYKA BADAŃ

Badania przeprowadzono na 40 szczurach białych z hodowli wsobnej obu płci o c.c. ok. 200 g, przebywających w jednakowych warunkach. Zwierzęta podzielono na 4 grupy, z których każda liczyła 10 szczurów. Grupa I — kontrolna, grupy II, III i IV — doświadczalne.

Grupa I — 0,9% roztwór NaCl w ilości 1,5 ml, codziennie podczas 6 tygodni.

Grupa II — Catergen firmy Zyma (Szwajcaria) w ilości 250 mg/kg c.c. codziennie podczas 6 tygodni.

Grupa III — 40% roztwór alkoholu etylowego w ilości 1,5 ml codziennie przez 6 tygodni.

Grupa IV — 40% roztwór alkoholu etylowego 1,5 ml codziennie przez 6 tygodni, a następnie 250 mg/kg c.c. Catergen codziennie przez 6 tygodni.

Roztwór 0,9% NaCl, alkohol etylowy i Catergen podawano szczurom przez zgłębnik, dożołądkowo. Planując układ doświadczenia założono z góry 6-tygodniowy okres obserwacji. Nerki do badań pobierano po upływie 24 godz. od podania ostatniej dawki każdej z wymienionych substancji. Skrawki przeglądowe utrwalano w 10% formolu i barwiono hematoksyliną Mayera i 1% wodnym roztworem eozyny. Aktywność adenozyntrójfosfatazy i 5'nukleotydu wykrywano według metody Wachsteina i Meisel, pirofosfatazy tiaminowej — według metody Novikoffa i Goldfischera, fosfatazy kwaśnej i zasadowej — według metody Gomoriego. Miejsca aktywności enzymów charakteryzowały się obecnością brunatnoczarnych ziarnistości.

WYNIKI BADAŃ

Grupa I kontrolna

(0,9% roztwór NaCl 1,5 ml codziennie przez 6 tygodni)

Hematoksylina i eozyna — wyraźnie zaznaczona struktura ciałek nerkowych i cewek krętych. Hematoksylina uwidacznia kuliste jądra z zarysowanym zrębem chromatynowym. Eozyna dokładnie i równomiernie zabarwia cytoplazmę komórek oraz jąderka leżące w części centralnej lub obwodowej jądra.

Adenozyntrójfosfataza — odczyn intensywny w kłębkach naczyńniczych, torebkach Bowmana, błonach komórkowych i w rąbku szczoteczkowym cewek krętych I rzędu oraz w przypodstawnym odcinku błony komórkowej cewek II rzędu (ryc. 1).

5'nukleotyda — intensywny odczyn enzymatyczny w cewkach krętych I rzędu występuje w postaci gęsto ułożonych ziarenek, mających

tendencję do zlewania się, w cewkach krętych II rzędu ograniczony tylko do błony przypodstawnej; brak reakcji w kłębkach naczyniowych, zaznaczonej jedynie w torebkach Bowmana (ryc. 2).

Pirofosfataza tiaminowa — znaczna aktywność enzyma tyczna we wszystkich naczyniach krwionośnych, szczególnie w kłębuszkach naczyniowych; w komórkach cewek krętych I i II rzędu — w formie drobnych ziarenek, często zlewających się, co topograficznie odpowiada strefie Golgiego (ryc. 3).

Fosfataza kwaśna — odczyn enzymatyczny w kłębkach naczyniowych o charakterze dyfuzyjnym, średnio nasilony, w cewkach krętych I rzędu silniejszy, ziarnisty, a II rzędu — słabszy (ryc. 4).

Fosfataza zasadowa — w ciałkach nerkowych brak reakcji, natomiast w cewkach krętych I rzędu — silny odczyn enzymatyczny, zarówno w postaci dyfuzyjnej, jak i ziarnistej, zlokalizowany głównie w rąbku szczoteczkowym (ryc. 5).

Grupa II (doświadczalna)

(250 mg/kg c.c. Catergenu codziennie przez 6 tygodni)

W barwieniu hematoksyliną i eozyną oraz w stopniu aktywności adenozynotrójfosfatazy, 5'nukleotydazy, pirofosfatazy tiaminowej, fosfatazy zasadowej nie obserwowano różnic w zestawieniu z grupą I kontrolną. Natomiast aktywność fosfatazy kwaśnej w cewkach krętych I i II rzędu jest nieco silniej wyrażona w porównaniu z kontrolą.

Grupa III (doświadczalna)

(40% roztwór alkoholu etylowego 1,5 ml codziennie przez 6 tygodni)

Hematoksylina i eozyna — ok. 80% preparatów wykazuje ogniskowe przyćmienie miąższowe komórek cewek krętych I rzędu, przestrzzenie międzyblaszkowe torebek Bowmana i światła cewek nerkowych są nie zmienione.

Adenozynotrójfosfataza — w ciałkach nerkowych reakcja enzymatyczna przypomina grupę kontrolną. Jej osłabienie w porównaniu z grupą I widać w obrębie rąbka szczoteczkowego cewek krętych I rzędu (ryc. 6).

5'nukleotydaza — występuje znaczny spadek aktywności 5'nukleotydazy w cewkach krętych I rzędu w porównaniu z grupą kontrolną, w częściach szczytowych komórek obserwuje się odczyn ziarnisty, a w przypodstawnych — dyfuzyjny (ryc. 7).

Pirofosfataza tiaminowa — w kłębkach naczyniowych aktywność enzymatyczna intensywna, ale mniejsza niż w grupie I, natomiast brak jej w torebkach Bowmana i w cewkach krętych I i II rzędu (ryc. 8).

Fosfataza kwaśna — w kłębkach naczyniowych brak reakcji enzymatycznej, zaś w cewkach krętych I rzędu następuje wyraźny jej wzrost, grube ziarna, świadczące o obecności enzymu, zlewają się, a w cewkach krętych II rzędu występuje odczyn dyfuzyjny (ryc. 9).

Fosfataza zasadowa — w cewkach krętych I rzędu obserwowano osłabienie aktywności enzymu w porównaniu z grupą kontrolną (ryc. 10).

Grupa IV (doświadczalna)

(40% roztwór alkoholu etylowego 1,5 ml codziennie przez 6 tygodni,
a następnie 250 mg/kg c.c. Catergeny codziennie przez 6 tygodni)

Hematoksylina i eozylna — ok. 10% preparatów wykazuje nieliczne ograniczone miejsca przyćmienia miąższowego w obrębie komórek cewek krętych I rzędu. Poza tym struktura morfologiczna nerki jest prawidłowa.

Adenozynotrójfosfataza — intensywność, jak i rozmieszczenie reakcji enzymatycznej przypomina obraz grupy kontrolnej.

5' nukleotydaza — reakcja w cewkach krętych I rzędu intensywna, podobnie jak w grupie I. W ciałkach nerkowych odczyn przypomina również grupę I (ryc. 11).

Pirofosfataza tiaminowa — aktywność enzymu bez uchwytnych zmian w porównaniu z kontrolą.

Fosfataza kwaśna — aktywność enzymatyczna w ciałkach nerkowych przypomina obserwowaną w grupie I. W cewkach krętych jej nasilenie jest podobne jak w grupie II, a więc nieco większe niż w grupie I (ryc. 12).

Fosfataza zasadowa — silny odczyn enzymatyczny w cewkach krętych I rzędu ma charakter zarówno dyfuzyjny, jak i gruboziarnisty, zlewający się, podobny do grupy I, natomiast ciałka nerkowe nie wykazują reakcji barwnej.

OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ

Wszystkie substancje wprowadzone do żywego organizmu ulegają metabolizmowi, a ich produkty obok działania korzystnego mogą być powodem niepożądanych efektów. Większość leków wydalana jest przez układ

moczowy, a wśród nich również i Catergen. W zależności od stosowanej dawki w różnych do siebie relacjach usuwana jest z moczem nie zmieniona forma Catergenu i jego metabolity (1).

Obrazy preparatów kontrolnych nerki barwionych hematoksyliną i eozyną jak również aktywność adenozynotrójfosfatazy, 5'nukleotydu, pirofosfatazy tiaminowej, fosfatazy kwaśnej i zasadowej są zgodne z danymi z piśmiennictwa (9, 14). W nerkach zwierząt, które otrzymywały Catergen dożołądkowo w dawce 250 mg/kg c.c., przy zastosowaniu wyżej podanych metod nie wykazano różnic w budowie morfologicznej oraz aktywności adenozynotrójfosfatazy, 5'nukleotydu, pirofosfatazy tiaminowej, fosfatazy zasadowej w porównaniu do kontroli. Stwierdzono natomiast nieco silniejszą reakcję na fosfatazę kwaśną w cewkach krętych I i II rzędu. W podobnym układzie doświadczenia, ale w odniesieniu do wątroby, tej zmiany nie notowano (4).

Trudno wytłumaczyć, dlaczego wystąpił niewielki wzrost aktywności fosfatazy kwaśnej po podaniu Catergenu. Należy podkreślić, że nerki należą do narządów, w których układ enzymatyczny jest szczególnie wrażliwy na działanie różnych bodźców, a także warunkuje go płeć, faza cyklu hormonalnego u samic, pory roku, zmiany dobowe, stosowane metody badań (7). Istnieje także ewentualność, że Catergen aktywuje enzymy zawarte w lizosomach (11). W przeprowadzonych badaniach obserwowano u zwierząt, które otrzymywały alkohol etylowy, ogniskowe przyćmienie mięszone cewek krętych I rzędu w 80% analizowanych preparatów, osłabienie aktywności adenozynotrójfosfatazy, 5'nukleotydu, fosfatazy zasadowej w cewkach krętych I rzędu, brak odczynu na pirofosfatazę tiaminową w cewkach krętych I i II rzędu oraz wzrost aktywności fosfatazy kwaśnej w cewkach krętych I rzędu w porównaniu z grupami I i II. Zmiany te świadczą o wybiórczym uszkodzeniu przez alkohol etylowy części czynnej nefronu.

W doświadczalnym zatruciu benzenem w nerkach myszy stwierdzono podobne zmiany do wyżej opisanych w aktywności adenozynotrójfosfatazy, fosfatazy kwaśnej i zasadowej (8).

Dane z piśmiennictwa przemawiają za osłabieniem reakcji na fosfatazę zasadową w cewkach krętych I rzędu pod wpływem dużych dawek Bencyliny-1, co jednak może być wyrazem stanu czynnościowego nerek i mieści się jeszcze w granicach fizjologii (5). O różnorodnej reakcji układów enzymatycznych świadczy wzrost odczynu na pirofosfatazę tiaminową w cewkach krętych nerki pod wpływem foschloru (15) i zupełny jego brak po podaniu zwierzętom alkoholu etylowego, co występuje również w opisywanym obecnie doświadczeniu.

Inne doniesienie z piśmiennictwa wskazuje, że w zatruciu tiorydazyną nie zmienia się w nerkach aktywność adenozynotrójfosfatazy, pirofos-

fatazy tiaminowej, fosfatazy kwaśnej i zasadowej w porównaniu z grupą kontrolną (3).

Grupa IV doświadczała otrzymywała alkohol etylowy, a następnie Catergen. Obserwowano cofanie się zmian morfologicznych oraz normalizację aktywności enzymów, które są wykładnikiem czynności kanalików. Znane jest korzystne działanie Catergenu w poalkoholowym uszkodzeniu wątroby. U ludzi występowała poprawa stanu klinicznego, powracały do wartości prawidłowych parametry biochemiczne, a także ustępowały zmiany w obrazie histologicznym (2, 10, 18). Natomiast nie znane są nam badania nad wpływem Catergenu na strukturę i funkcję innych narządów.

Wnioski

1. W nerkach szczurów otrzymujących Catergen nie obserwowano uchwytanych zmian w porównaniu z kontrolą w strukturze morfologicznej oraz aktywności adenozyntrójfosfatazy, 5'nukleotydazy, pirofosfatazy tiaminowej, fosfatazy zasadowej.

2. Po 6 tygodniach podawania alkoholu etylowego wykazano ogniskowe przyćmienie miąższowe, osłabienie reakcji na adenozyntrójfosfatazę, 5'nukleotydazę, fosfatazę zasadową i wzrost aktywności fosfatazy kwaśnej w cewkach krętych I rzędu oraz brak odczynu na pirofosfatazę tiaminową w cewkach krętych I i II rzędu.

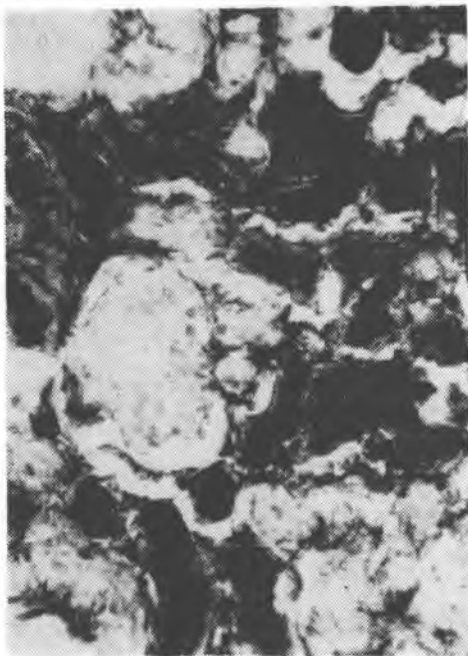
3. Stwierdzone zmiany wywołane podawaniem alkoholu etylowego ustąpiły po 6 tygodniach stosowania Catergenu.

PIŚMIENNICTWO

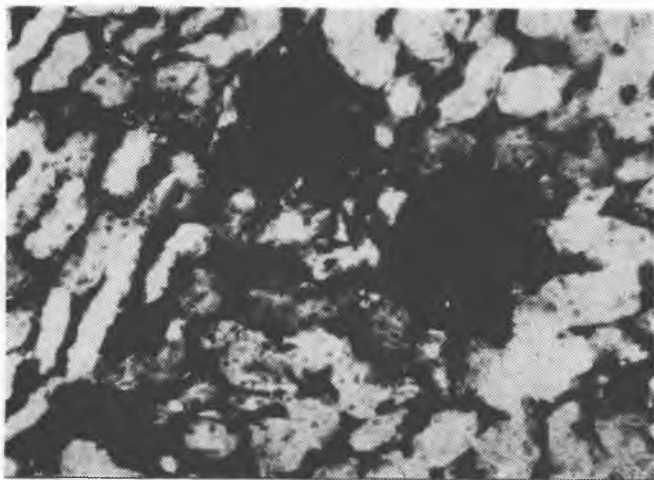
1. Balomt L., Burki B.: Compaxion of Some Pharmacokinetic Parameters of (+)-Cyanidanol-3 Obtained with Specific and Non-specific Analytical Methods. *Arzneim-Forsch. Drug. Res.* **29** (II), 1758, 1979.
2. Bel A., Chambon A.: A Study of a New Drug in Essentially Ethanollic Chronic Hepatopathies. *Min. Diet. e Gastr.* **23**, 1, 1977.
3. Bryc R.: Badania histochemiczne i histologiczne wątroby oraz nerek szczurów w przewlekłym zatruciu tiorydazyną. *Pat. Pol.* **23**, 241, 1979.
4. Ciszewska-Popiołek B. i wsp.: Wpływ leczenia Catergenem na wyniki badań histochemicznych poalkoholowego uszkodzenia wątroby szczurów. *Pat. Pol.* **33**, 71, 1982.
5. Czerny K. i wsp.: Badania histologiczne i histochemiczne nerek znajdujących się pod wpływem działania antybiotyku o wstępnej nazwie Bencylina-1. *Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Lublin, Sectio D* **34**, 231, 1979.
6. Grabowska-Hibner J. i wsp.: Biochemiczne aspekty alkoholizmu. I. Metabolizm etanolu i jego wpływ na przemianę węglowodanów. *Post. Hig. Med. Dośw.* **33**, 197, 1979.



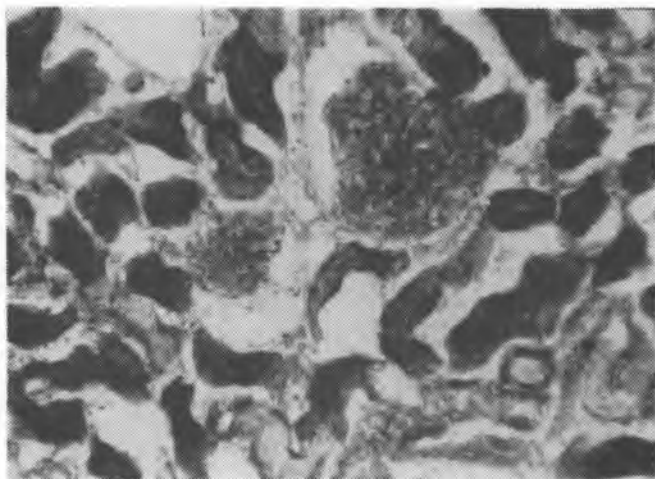
Ryc. 1



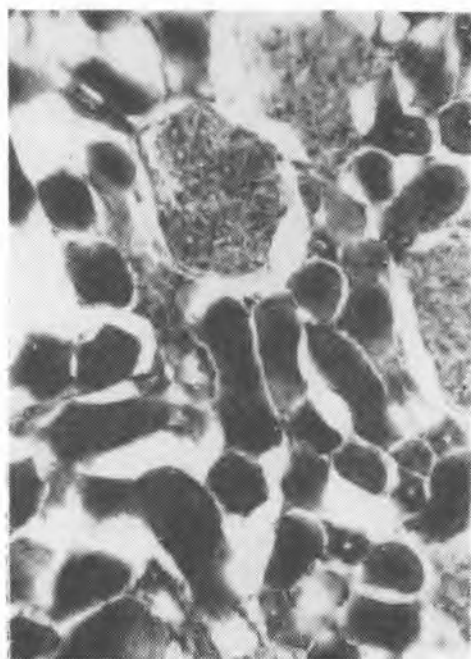
Ryc. 2



Ryc. 3



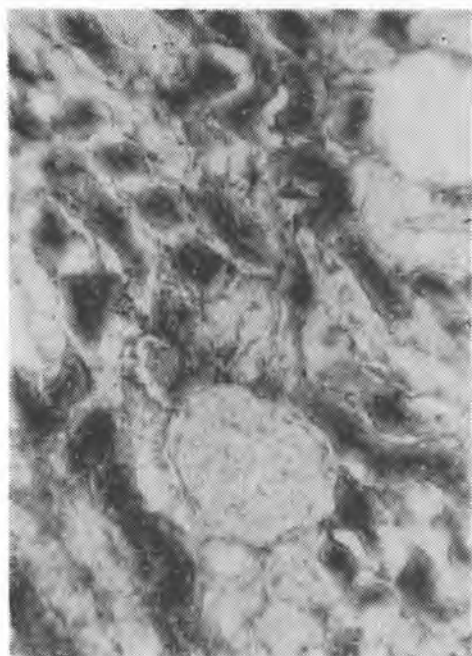
Ryc. 4



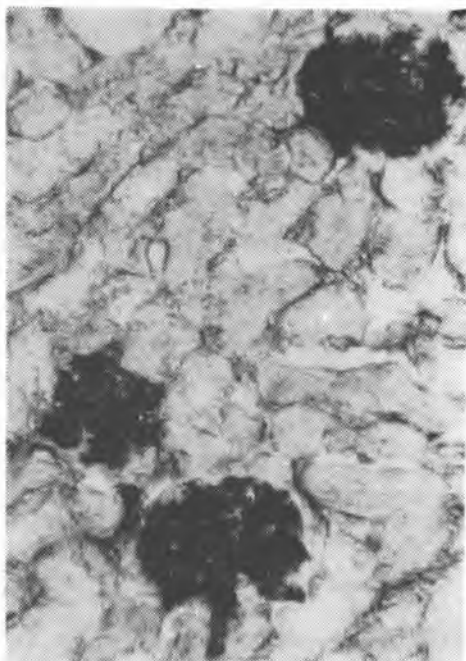
Ryc. 5



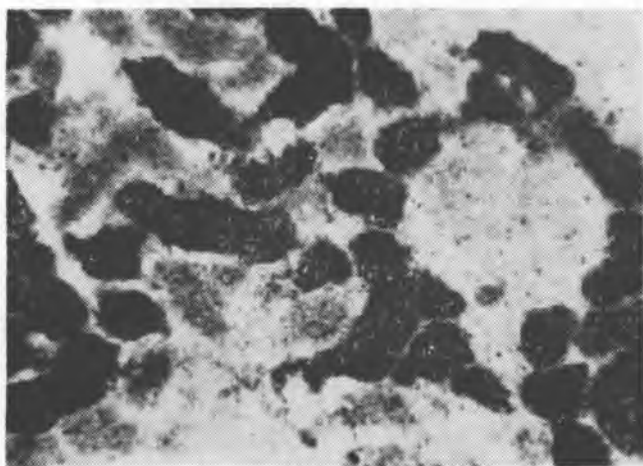
Ryc. 6



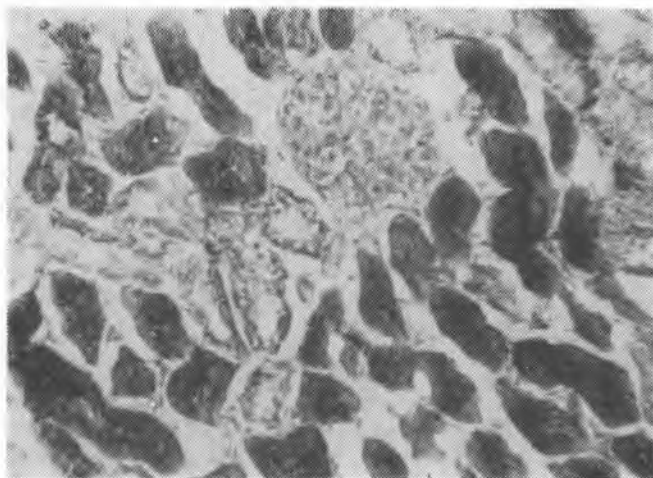
Ryc. 7



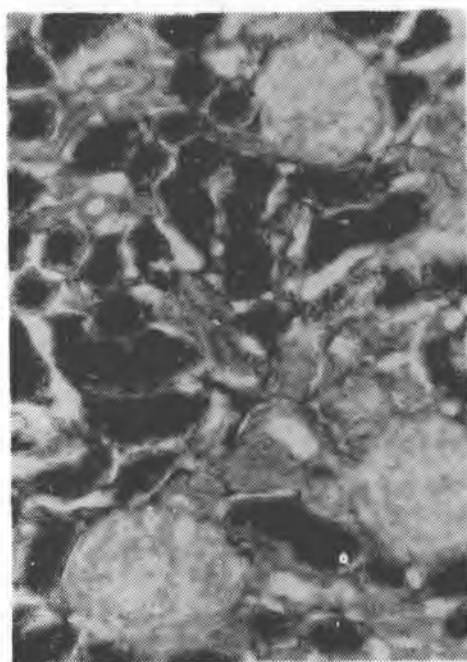
Ryc. 8



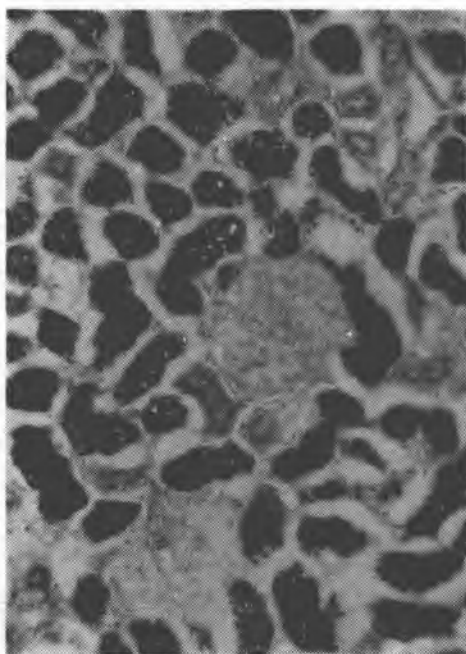
Ryc. 9



Ryc. 10



Ryc. 11



Ryc. 12

7. Irintscheff A., Davidoff M.: Über die Verteilung einiger Hydrolasen in der Rattenniere. *Histochemistry* **71**, 463, 1981.
8. Jonek J. i wsp.: Wpływ podostrego zatrucia benzenem na zachowanie się dehydrogenazy kwasu bursztynowego, NADH₂-Ca-formol oraz fosfatazy kwaśnej i zasadowej w nerkach myszy. *Med. Pracy* **20**, 504, 1969.
9. Le Hir M. i wsp.: Quantitative Distribution of Lysosomal Hydrolases in the Rat Nephron. *Histochemistry* **63**, 245, 1979.
10. Neu in der Lebertherapie. *Selecta* **49**, 3, 1977 [artykuł redakcyjny].
11. Niebes P., Ponnard G.: Stabilization of Rat Liver Lysosomes by (+)-Cyanidanol-3 *in vivo*. *Biochem. Pharm.* **24**, 905, 1975.
12. Obuchowska D.: Badania mikroskopowo-elektronowe nad wpływem etanolu na nabłonek kanalików nerki szczura. *Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Lublin, Sectio D* **29**, 93, 1974.
13. Popow J. i wsp.: Zachowanie się fosfataz niespecyficznych w wątrobie i nerkach świnek morskich w przewlekłym zatruciu krezolem. *Bromat. Chem. Toksykol.* **5**, 359, 1972.
14. Staszyc J., Rzeszowska G.: Badania nad wpływem nagłego niedokrwienia na odczyny histochemiczne w nerkach. *Pat. Pol.* **21**, 105, 1970.
15. Staszyc J., Kifer E.: Badania histofizjologiczne narządów szczura znajdujących się pod wpływem foschloru. *Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Sectio D* **28**, 75, 1973.
16. Stiasna I. i wsp.: Biochemiczne aspekty alkoholizmu. II. Wpływ etanolu na przemiany białek i steroidów. *Post. Hig. Med. Dośw.* **33**, 325, 1979.
17. Stiasna I. i wsp.: Metabolizm alkoholu etylowego w wątrobie. *Post. Biochem.* **26**, 29, 1980.
18. Traissac F. J., Borg R.: A New Treatment for Hepatic Insufficiency. *Min. Diet. e Gastr.* **23**, 237, 1977.

Otrzymano 11 II 1983.

OBJAŚNIENIA RYCIŃ

Ryc. 1. Reakcja na adenylozotrójfosfatazę w nerce szczura z grupy kontrolnej. Barwienie metodą Wachsteina i Meisel. Pow. ok. 200×.

Ryc. 2. Reakcja na 5'nukleotydazę w nerce szczura z grupy kontrolnej. Barwienie metodą Wachsteina i Meisel. Pow. ok. 200×.

Ryc. 3. Reakcja na pirofosfatazę tiaminową w nerce szczura z grupy kontrolnej. Barwienie metodą Novikoffa i Goldfishera. Pow. ok. 200×.

Ryc. 4. Reakcja na fosfatazę kwaśną w nerce szczura z grupy kontrolnej. Barwienie metodą Gomoriego. Pow. ok. 200×.

Ryc. 5. Reakcja na fosfatazę zasadową w nerce szczura z grupy kontrolnej. Barwienie metodą Gomoriego. Pow. ok. 200×.

Ryc. 6. Reakcja na adenylozotrójfosfatazę w nerce szczura po podaniu alkoholu etylowego. Barwienie metodą Wachsteina i Meisel. Pow. ok. 200×.

Ryc. 7. Reakcja na 5'nukleotydazę w nerce szczura po podaniu alkoholu etylowego. Barwienie metodą Wachsteina i Meisel. Pow. ok. 200×.

Ryc. 8. Reakcja na pirofosfatazę tiaminową w nerce szczura po podaniu alkoholu etylowego. Barwienie metodą Novikoffa i Goldfischera. Pow. ok. 200×.

Ryc. 9. Reakcja na fosfatazę kwaśną w nerce szczura po podaniu alkoholu etylowego. Barwienie metodą Gomoriego. Pow. ok. 200×.

Ryc. 10. Reakcja na fosfatazę zasadową w nerce szczura po podaniu alkoholu etylowego. Barwienie metodą Gomoriego. Pow. ok. 200×.

Ryc. 11. Reakcja na 5' nukleotydazę w nerce szczura po podaniu alkoholu etylowego, a następnie Catergenu. Barwienie metodą Wachsteina i Meisel. Pow. ok. 200×.

Ryc. 12. Reakcja na fosfatazę kwaśną w nerce szczura po podaniu alkoholu etylowego, a następnie Catergenu. Barwienie metodą Gomoriego. Pow. ok. 200×.

РЕЗЮМЕ

Гистохимические исследования проведено в почках четырех групп белых крыс (10 животных в каждой группе), которые получали: 0,9% раствор NaCl — I, Катерген — II, этанол — III, этанол, а потом Катерген — IV. Определено активность аденозинотрифосфатазы, 5'нуклеотидазы, тиаминовой фосфатазы, кислой и щелочной фосфатазы. Не замечено изменений в почках крыс получающих Катерген по сравнению с контрольной группой как в морфологической структуре, так и в активности аденозинотрифосфатазы, 5'нуклеотидазы, тиаминовой пирозфосфатазы и щелочной фосфатазы. При шестинедельном применении этанола обнаружено очаговое мягкотное затемнение, понижение реакции на аденозинотрифосфатазу, 5'нуклеотидазу, щелочную фосфатазу и повышение активности кислой фосфатазы в крутых мочеиспускательных каналах I ряда, а также отсутствие реакции на тиаминовую пирозфосфатазу в крутых мочеиспускательных каналах I и II ряда. Обнаруженные изменения выступившие под влиянием этанола, исчезали после шестинедельного применения Катергена.

SUMMARY

Histochemical investigations were carried out on kidneys of four groups of white rats (10 animals in each group), which were given a 0.9% NaCl solution — group I, Catergen — group II, ethyl alcohol — group III, and ethyl alcohol and next Catergen — group IV. The activities of adenosine triphosphatase, 5'nucleotidase, thiamine pyrophosphatase, acid and alkaline phosphatase were determined. In comparison with the control group, no perceptible changes were observed in the kidneys of rats receiving Catergen, both in morphological structure and in the activity of adenosine triphosphatase, 5'nucleotidase, thiamine pyrophosphatase and alkaline phosphatase. After 6 weeks of administering ethyl alcohol, there were proved focal parenchymatous darkening, the weakening of reaction to adenosine triphosphatase, 5'nucleotidase, alkaline phosphatase and an increase of the activity of acid phosphatase in contorted tubules of the 1st range, as well as lack of reaction to thiamine pyrophosphatase in contorted tubules of the 1st and 2nd range. The observed changes produced by the administration of ethyl alcohol ceased after 6 weeks of Catergen administration.

EXPLANATION TO FIGURES

- Fig. 1. Adenosine triphosphatase reaction in the kidney of control rat. The Wachstein and Meisel method. Magn. 200X.
- Fig. 2. 5'nucleotidase reaction in the kidney of control rat. The Wachstein and Meisel method. Magn. 200X.
- Fig. 3. Thiamine pyrophosphatase reaction in the kidney of control rat. The Novikoff and Goldfischer method. Magn. 200X.
- Fig. 4. Acid phosphatase reaction in the kidney of control rat. The Gomori method. Magn. 200X.
- Fig. 5. Alkaline phosphatase reaction in the kidney of control rat. The Gomori method. Magn. 200X.
- Fig. 6. Adenosine triphosphatase reaction in the rat kidney after ethyl alcohol. The Wachstein and Meisel method. Magn. 200X.
- Fig. 7. 5'nucleotidase reaction in the rat kidney after ethyl alcohol. The Wachstein and Meisel method. Magn. 200X.
- Fig. 8. Thiamine pyrophosphatase reaction in the rat kidney after ethyl alcohol. The Novikoff and Goldfischer method. Magn. 200X.
- Fig. 9. Acid phosphatase reaction in the rat kidney after ethyl alcohol. The Gomori method. Magn. 200X.
- Fig. 10. Alcaline phosphatase reaction in the rat kidney after ethyl alcohol. The Gomori method. Magn. 200X.
- Fig. 11. 5'nucleotidase reaction in the rat kidney after ethyl alcohol followed by Catergen. The Wachstein and Meisel method. Magn. 200X.
- Fig. 12. Acid phosphatase reaction in the rat kidney after ethyl alcohol followed by Catergen. The Gomori method. Magn. 200X.

