

ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN—POLONIA

VOL. XXXVI, 16

SECTIO D

1981

Zakład Histologii i Embriologii. Instytut Biologiczno-Morfologiczny. Akademia Medyczna
w Lublinie

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Józef Staszyc

Józef STASZYC, Ewa KIFER, Mariusz LIPSKI

Badania cytofizjologiczne nad wpływem Diuramidu na nerki szczura

Цитофизиологические исследования влияния Диурамида на почки крыс

A Cytophysiological Analysis of the Influence of Diuramid on a Rat's Kidneys

Mechanizm działania leków moczopędnych na komórki nabłonka nefronów nie jest w pełni wyjaśniony, a nawet różnie interpretowany. Dlatego też wydaje się istotne dokonanie oceny aktywności kwasów nukleinowych i niektórych enzymów oraz stanu fizjologicznego cewek krętych I rzędu nerek, pozostających pod działaniem Diuramidu w różnych warunkach doświadczalnych.

MATERIAŁ I METODYKA BADAŃ

Dojrzałe piciowo szczury białe (24 sztuki), hodowli wsobnej, płci mieszanej, podzielono na grupy: kontrolną i dwie doświadczalne. Grupa I doświadczalna składała się z podgrup A-I i B-I. Zwierzęta otrzymywały sondą dożołądkową codziennie po 3,5 mg/kg c.c. Diuramidu rozpuszczonego w oliwie. Po 7 dniach dekapitowano szczury podgrupy A-I, a zwierzętom podgrupy B-I usuwano operacyjnie w narkozie ogólnej nerkę lewą. Operowanym zwierzętom po 3 dniach od zabiegu ponownie podawano Diuramid przez 7 dni. Po tym czasie pobrano materiał do badania. Grupa II doświadczalna składała się również z dwóch podgrup: A-II i B-II. Zastosowano też podobny sposób podawania leku i czas trwania doświadczenia, jednak użyto 10-krotnie większe dawki Diuramidu (35,0 mg/kg c.c.) niż w grupie I doświadczalnej.

Wycinki z nerek przygotowano zgodnie ze stosowaną techniką barwienia wg metody Feulgena i Bracheta, wg metody PAS oraz barwiono hematoksyliną i eozyną. Wykonano też odczyny na aktywność fosfatyz: kwaśnej (Fk) i zasadowej (Fz) wg metody Gomoriego, dehydrogenazy bursztynianowej (DB) wg metody Nachlasa a adenozynotrójfosfatyz (ATP-azy) wg metody Wachsteina i Meisel.

BADANIA WŁASNE

W porównaniu z materiałem kontrolnym we wszystkich grupach doświadczalnych średnica światła cewek krętych I rzędu była powiększona, a komórki nabłonka niższe. W podgrupach B-I i B-II komórki uległy jeszcze większemu spłaszczeniu, zachowując wysoki rąbek szczoteczkowy. W przeciwieństwie do preparatów z grupy kontrolnej, w których większość jam ciałek nerkowych miała kształt szczelinowaty (ryc. 1), w grupach doświadczalnych były one balonowato poszerzone (ryc. 2). W czasie całego doświadczenia kwas dezoksyrybonukleinowy nie wykazywał zmian w rozmieszczeniu i stopniu wybarwienia. Natomiast RNA w podgrupie B-II częściej lokalizował się przede wszystkim przywierzchołkowo, choć stopień jego wybarwienia przypominał pironinochłonne jąderka. Substancje PAS dodatnie, odporne na działanie diastazy w porównaniu z grupą kontrolną, zachowywały się odmiennie we wszystkich grupach doświadczalnych. Zmiany, zarówno rozmieszczenia, jak i nierównomiernego wybarwienia, ujawniały się najintensywniej w rąbku szczoteczkowym podgrupy B-I (ryc. 2).

Reakcje na aktywność DB uległy wyraźnej zmianie dopiero w podgrupie B-II, gdzie ziarenka formazanu układały się nie tylko w przypadkowej i środkowej części cytoplazmy (ryc. 3), ale wypełniały całe komórki nabłonka cewek krętych I rzędu (ryc. 4).

W podgrupach zwierząt operowanych (A-II i B-II) zwiększyła się intensywność reakcji na Fk oraz wzrosła ilość ziaren fosfatazododatnich. W części cewek krętych I rzędu znaleziono komórki, w których Fk tworzyła konglomeraty lub dała odczyn dyfuzyjny (ryc. 5).

Odczyn na aktywność Fz w cewkach krętych I rzędu w grupach doświadczalnych był pozytywny, ale nie tak jednolity jak w nerkach kontrolnych. Zmiany te były szczególnie zaznaczone w podgrupach B-I i B-II. Aktywność na ATP-azę była nierównomierna w rąbku szczoteczkowym i w błonach podstawowych podgrup A-I, A-II i B-I, przy obniżeniu jej reaktywności w cytoplazmie (ryc. 6). Spadek reakcji na ten enzym stwierdzono w rąbku szczoteczkowym komórek podgrupy B-II, gdzie obserwowano nawet odczyn dyfuzyjny.

OMÓWIENIE WYNIKÓW I WNIOSKI

Różnice i podobieństwa w działaniu różnych leków moczopędnych wynikają zarówno z ich budowy chemicznej, jak i powinowactwa do struktur komórkowych nefronu. W naszym doświadczeniu zastosowano Diuramid, ponieważ hamuje on katalityczne działanie anhydryzy węgl-

nowej i wywołuje wymuszoną diurezę (4). Badania wykonano na szczurach z nie zmienionym układem moczowym oraz na grupach z jedną nerką, by prześledzić ewentualnie większy wpływ Diuramidu na obciążoną, pozostałą nerkę.

Obrazem morfologicznym diuretycznego efektu działania Diuramidu było poszerzenie jamy ciałek nerkowych, spłaszczenie komórek i wysoki rąbek szczoteczkowy w cewkach krętych I rzędu. Stan ten wystąpił już w podgrupie A-I, a więc przy minimalnej dawce leku. W podgrupie B-II rąbek szczoteczkowy był wyraźnie nierówny, co może wskazywać, że po zabiegu i po podaniu Diuramidu nastąpiło nie tylko obniżenie resorpcji zwrotnej, ale, być może, i filtracji na poziomie cewek krętych I rzędu. Potwierdzeniem takiego rozumowania były nierównomierne odczyny PAS.

Kwas dezoksyrybonukleinowy w ciągu całego doświadczenia nie wykazywał odchyień od kontroli. Natomiast RNA w podgrupie B-II w licznych komórkach nabłonka zmienił lokalizację, co przy łączności z zachowaniem się odczynów PAS może przemawiać za obniżeniem cyklu pentazonowego (1, 5). Sądzimy, że duży wpływ miał w tym przypadku zabieg usunięcia nerki (5).

W eksperymencie poddano obserwacji tylko część enzymów związanych z określonymi strukturami komórek nabłonka cewek krętych I rzędu, a jednocześnie wyznaczającymi ich stan czynnościowy, obejmujący tak następową resorpcję zwrotną, jak i wydzielanie. Fosfataza kwaśna zlokalizowana w lizosomach jest czułym markerem obrazującym pełną aktywność życiową komórki. W grupach doświadczalnych obserwowaliśmy cewki, w których reakcje na Fk rozmieszczone były w różnych miejscach cytoplazmy, układały się w konglomeraty, a nawet dawały odczyny dyfuzyjne. W naszym doświadczeniu może to wskazywać na zmianę procesów pinocytozy i fagocytozy (1, 3). Zauważyliśmy, że ta dyslokacja i poziom aktywności reakcji na enzymy miały związek z ilością podanego Diuramidu (2, 4). Potwierdzeniem takiego rozumowania były zmiany odczynów na DB, Fz, ATP-azę i Fk, których aktywność jest ważnym wykładnikiem czynności nerek. Występujące na podłużnych przekrojach niektórych cewek krętych I rzędu różne stopnie nasilenia aktywności badanych enzymów, być może, wskazują, że w tej części nefronów istnieją „czynnościowe strefy”, których komórki specyficznie reagują na Diuramid.

Na podstawie przeprowadzonych badań można wnioskować, że Diuramid, nie zmieniając ultrafiltracji kłębkowej, zmniejsza wchłanianie zwrotne w cewkach krętych I rzędu.

PIŚMIENICTWO

1. Kifer E.: Wpływ zatrucia związkami fosforoorganicznymi na metabolizm komórek nabłonka nefronu. Rozprawa doktorska, Akademia Med., Lublin 1978.
2. Nowak S., Ryszewski W.: W sprawie stosowania Diuramidu w przewlekłej zaporowej niewydolności oddechowej. Wiad. Lek. 19, 1701, 1974.
3. Oknińska A.: Wybrane zagadnienia nefrologii dziecięcej. Biul. Inform. 4, 134, 1972.
4. Podlewski J. K., Chwalibowska-Podlowska A.: Leki współczesnej terapii, 3, PZWL, Warszawa 1978.
5. Staszyc J.: Badania cytotopochemiczne nefronów po operacyjnym podwiązaniu tętnicy nerkowej u szczurów. Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Lublin, Sectio D 27, 11, 1972.

Otrzymano 19 VII 1980.

OPIS RYCIŃ

Ryc. 1. Nerka szczura kontrolnego. Barwienie hematoksyliną i eozyną. Pow. ok. 200X.

Ryc. 2. Nerka szczura podgrupy B-I. Barwienie wg McManusa. Pow. ok. 200X.

Ryc. 3. Nerka szczura podgrupy B-I. Odczyn na dehydrogenazę bursztynianową wg metody Nachlasa. Pow. ok. 200X.

Ryc. 4. Nerka szczura podgrupy B-II. Odczyn na dehydrogenazę bursztynianową wg metody Nachlasa. Pow. ok. 200X.

Ryc. 5. Nerka szczura podgrupy A-II. Odczyn na fosfatazę kwaśną. Metoda wg Gomoriego. Pow. ok. 200X.

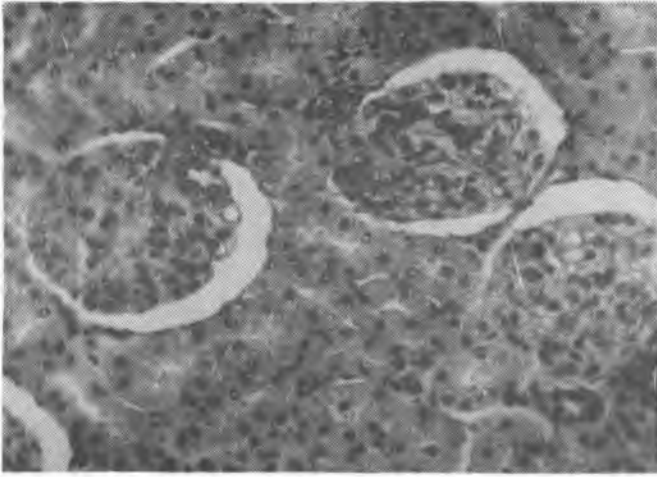
Ryc. 6. Nerka szczura podgrupy A-I. Odczyn na adenozyotrójfosfatazę wg metody Wachsteina i Meisel. Pow. ok. 200X.

РЕЗЮМЕ

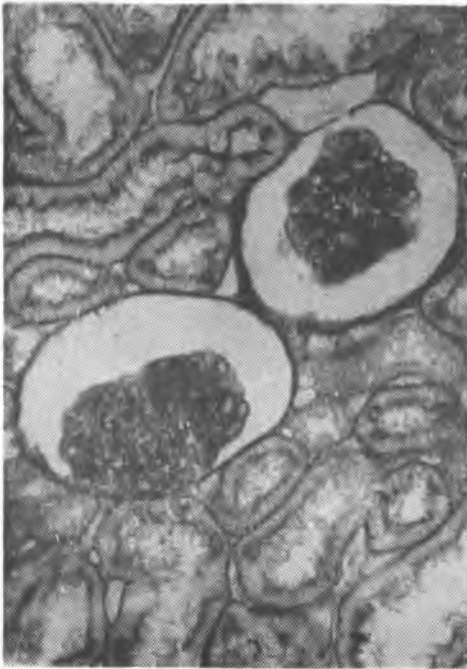
Авторы исследовали влияние Диурамида — мочегонного средства на энзиматическую реакцию почечных клубочков I степени. На основании активности нуклеиновых кислот, мукополисахаридов, кислотной и щелочной фосфатазы, сукцинатдегидрогеназы, а также аденозин-3' фосфатазы, авторы пришли к выводу, что это лекарство не изменяет фильтрации в клубочках, уменьшает однако обратное абсорбирование первичной мочи. Кроме того авторы считают, что в области почечных клубочков I степени находятся „функциональные зоны” специфично реагирующие на Диурамид.

SUMMARY

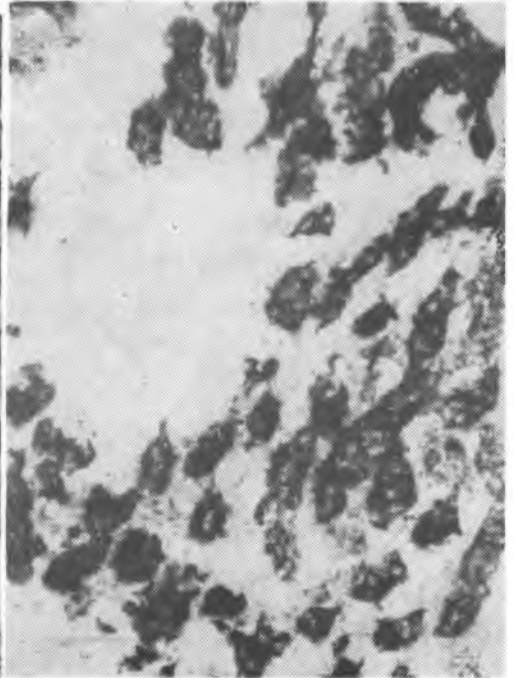
The authors have dealt with the influence of Diuramid — a urinate agent — on the enzymatic reactions in convolutions proximal. On the basis of the activity of nucleic acids, mucopolysaccharides, alkaline and acid phosphatases, succinic dehydrogenase and adenosine triphosphatase the authors found that this medicine



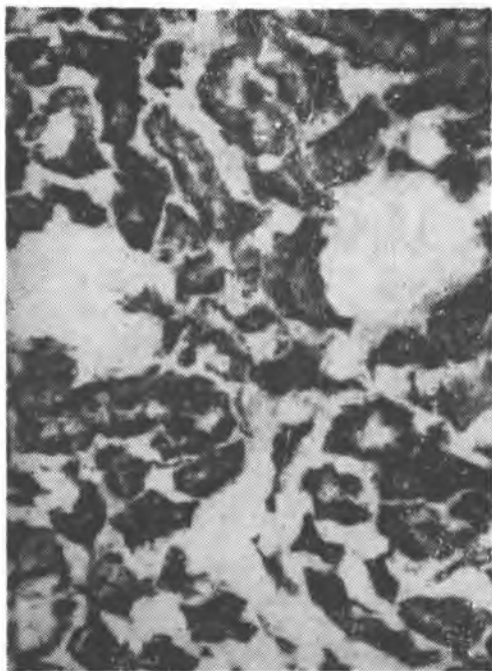
Ryc. 1



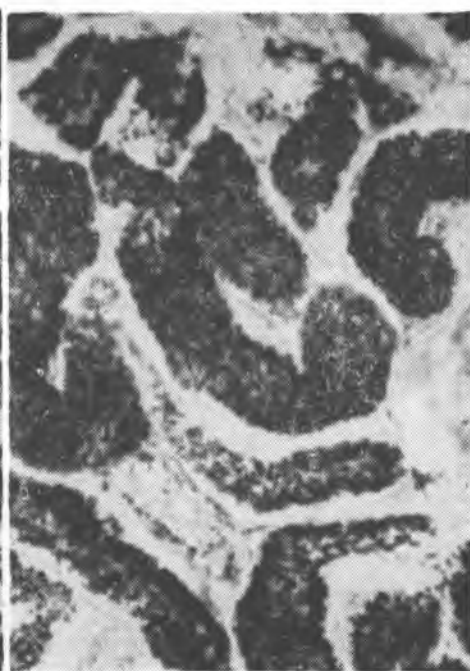
Ryc. 2



Ryc. 3



Ryc. 4



Ryc. 5



Ryc. 6

does not change the filtration in the glomeruli of the kidney but it lessens the reabsorption of the original urine. Apart from that, the authors believe there are "functional zones" in the vicinity of the convolutions proximal which react to Diuramid in a specific way.

EXPLANATION TO FIGURES

Fig. 1. Control kidney. Colouring with hematoxylin — eosine. Magn. ca 200X.

Fig. 2. Kidney of subgroup B-I. Colouring after McManus's method. Magn. ca 200X.

Fig. 3. Kidney of subgroup B-I. Reaction to dehydrogenase succinate after Nachlas's method. Magn. ca 200X.

Fig. 4. Kidney of subgroup B-II. Reaction to dehydrogenase succinate after Nachlas's method. Magn. 200X.

Fig. 5. Test for the activity of acid phosphatase. Gomori's method. Kidney of subgroup A-II. Magn. ca 200X.

Fig. 6. Kidney of subgroup A-I. Reaction of adenosinetriphosphatase after Wachstein's and Meisel's method. Magn. ca 200X.

