

ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN—POLONIA

VOL. XXXVI, 23

SECTIO D

1981

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

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

Krystyna CZERNY, Ewa KIFER,
Józef STASZYC, Jolanta KULESZA

**Badania nad wpływem Acetazolamidu i usunięcia nerki na wątrobę
szczura**

Исследование влияния Ацетазоламида и резекции почки на печень крыс

Investigation of the Influence of Acetazolamide and Nephrectomy on the Rat Liver

Acetazolamid (Diuramid, 5-acetamido-1,3,4-tiadiazolo-2-sulfonamid), podobnie jak inne leki moczopędne z grupy sulfonamidów, metabolizowany jest częściowo w wątrobie (1). W lecznictwie znajduje zastosowanie między innymi w usuwaniu obrzęków występujących w marskości wątroby i przewlekłej niewydolności krążenia (5), gdy również tkanka wątrobowa jest uszkodzona. Te fakty skłoniły nas do obserwacji wątroby po eksperymentalnym podaniu Acetazolamidu zwierzętom, którym operacyjnie usunięto jedną nerkę. Interesowało nas zagadnienie oddziaływania leku na wątrobę w tak zmienionych warunkach. Do badań stosowano Acetazolamid firmy „Pofla” — Diuramid — w dawkach dających efekty farmakologiczne (2). Wykładnikiem skutków były zmiany w obrębie odczynów histochemicznych.

MATERIAŁ I METODYKA BADAŃ

Obserwacje prowadzono na szczurach białych hodowli wsobnej, pochodzących z hodowli Zakładu Histologii i Embriologii IBM Akademii Medycznej w Lublinie. Szczury płci mieszanej o ciężarze ciała 260—340 g przebywały przez okres doświadczenia w tych samych warunkach i otrzymywały standardową dietę. Zwierzęta podzielono na grupy:

Kontrolna — 6 szczurów.

Grupa I doświadczalna — zwierzęta nie operowane — 8 szczurów.

Seria A — otrzymywały Diuramid w dawce codziennej 3,5 mg/kg m.c. przez 7 dni.

Seria B — otrzymywały Diuramid w dawce codziennej 35 mg/kg m.c. przez 7 dni.

Grupa II doświadczalna — zwierzęta, którym wykonano lewostronną nefrektomię — 8 szczurów. Szczury tej grupy otrzymywały Diuramid codziennie przez 7 dni przed operacją, w seriach A i B jak w grupie I (nie operowane) i po tygodniu przerwy od chwili operacji — ponownie przez 7 dni w dawkach codziennych jak w grupie I (seria A — 3,5 mg/kg m.c., seria B — 35 mg/kg m.c.). Diuramid podawano sondą dożołądkowo w zawieszynie (*oelum olivae*). Zwierzęta kontrolne otrzymywały samą oliwę. Lek podawano codziennie rano o godz. 9.00.

Po ukończeniu doświadczenia, szczury dekapitowano w narkozie eterowej i pobierano fragmenty lewego płata wątroby. Tkankę podzielono na 3 części.

1. Nie utrwalone wycinki krajano w kriostacie (10 mμ) i wykonywano reakcję na aktywność dehydrogenazy bursztynianowej wg Nachlasa.

2. Wycinki utrwalano w mieszaninie wg Bakera w temp. 4°C przez 24 godz. i krojono na mikrotomie mrozeniowym (10 mμ). Wykonywano reakcje na aktywność fosfatazy kwaśnej wg Gomoriego i ATP-azy wg Wachsteina i Meisel.

3. Utrwalano w płynie Carnoya, zamykano w parafinie. Na skrawkach (8 mμ) wykonywano odczyny histochemiczne na wielocukry (reakcja PAS, barwienie błękitem alcjanowym), na kwasy nukleinowe (odczyny Feulgena i Bracheta) oraz barwienie przeglądowe hematoksyliną i eozyną. Odczyny i ich reakcje kontrolne przeprowadzono zgodnie z przepisami zawartymi w opracowaniach technik histochemicznych (4, 7).

BADANIA WŁASNE

Grupa I doświadczalna (zwierzęta nie operowane)

Seria A (dawka codzienna 3,5 mg/kg m.c.). W tkance wątrobowej na preparatach barwionych hematoksyliną i eozyną nie stwierdzono cech patologicznych. Nie obserwowano również zmian w intensywności i lokalizacji reakcji PAS oraz po zabarwieniu błękitem alcjanowym. Odczyny Feulgena i Bracheta nie wykazywały różnic z preparatami kontrolnymi. Aktywność enzymów hydrolitycznych była w granicach fizjologicznych. Odczyn na aktywność dehydrogenazy bursztynianowej również nie różnił się od obserwowanego w warunkach normalnych.

Seria B (dawka codzienna 35 mg/kg m.c.). Po zabarwieniu hematoksyliną i eozyną obserwowano poszerzenie przestrzeni okołobeczkowych i nacieki drobnokomórkowe (ryc. 1). Intensywność reakcji PAS była niska we wszystkich strefach gronek wątrobowych. Barwienie błękitem alcjanowym na mukopolisacharydy kwaśne nie wykazywało różnic od obserwowanego w obrazie kontrolnym. Odczyn Feulgena uwidoczniał polimorfizm jąder hepatocytów, ich różną wielkość i różną gęstość zrębu chro-

matynowego. Często występowały komórki dwujądrazte, spotykano jądra piknotyczne obok jąder dużych o luźnym zrębie chromatynowym. Reakcja Bracheta wykazała nierównomierną pyroninochłonność cytoplazmy, zwłaszcza centralnych obszarów gronek wątrobowych, odczyn miał charakter gruboziarnisty. Również nieregularny, silny, ogniskowo dyfuzyjny był odczyn na aktywność fosfatazy kwaśnej (ryc. 2). Obserwowano znacznie wzmożoną, nierównomierną aktywność ATP-azy w ścianach poszerzonych kanalików żółciowych (ryc. 3). Odczyn na aktywność dehydrogenazy bursztynianowej był nierównomierny: obserwowano jego ogólne osłabienie, a w sąsiedztwie żyły bramnej — wyraźne wzmożenie (ryc. 4).

Grupa II doświadczalna (zwierzęta operowane)

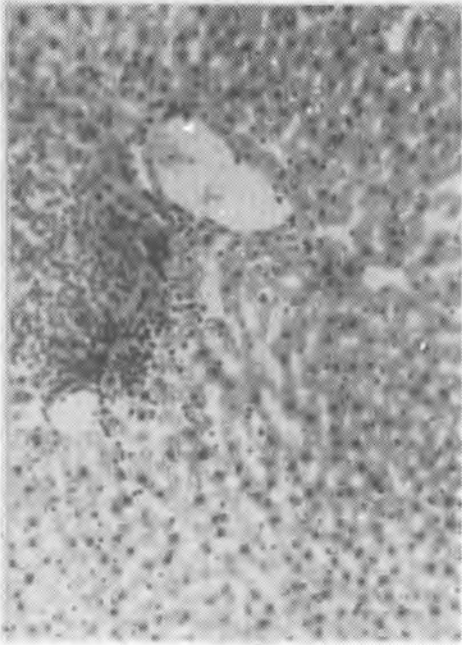
Seria A (dawka codzienna 3,5 mg/kg m.c.). Na preparatach przeglądowych (barwienie hematoksyliną i eozyną) nie stwierdzono istotnych różnic w porównaniu z preparatami grupy kontrolnej oraz z obrazami w analogicznej serii grupy zwierząt nie operowanych. Intensywność i lokalizacja reakcji PAS były prawidłowe. Podobnie nie obserwowano zmian po zabarwieniu błękitem alcjanowym. Kształt i wielkość jąder komórkowych odpowiadały obrazom fizjologicznym. Nie wystąpiły też zmiany w wynikach reakcji Bracheta. Odczyn na aktywność fosfatazy kwaśnej miał charakter drobnoziarnisty, równomierny. Podobnie nie stwierdzono zmian patologicznych w rysunku kanalików żółciowych po wykonaniu reakcji na aktywność ATP-azy. Reakcja na aktywność dehydrogenazy bursztynianowej wykazywała prawidłowe nasilenie i rozmieszczenie, obserwowane w warunkach fizjologicznych.

Seria B (dawka codzienna 35 mg/kg m.c.). Po zabarwieniu preparatów hematoksyliną i eozyną stwierdzono wystąpienie obrzęku tkanki wątrobowej i ogniskowe okrągłokomórkowe nacieki zapalne. Reakcja PAS była osłabiona na przestrzeni całych gronek wątrobowych. Nie stwierdzono zmian po zabarwieniu błękitem alcjanowym. Po wykonaniu reakcji Feulgena obserwowano polimorfizm jąder hepatocytów i często występowanie komórek dwujądraztych. Pyroninochłonność cytoplazmy uległa osłabieniu, zwłaszcza w okolicy żył środkowych. Odczyn na aktywność fosfatazy kwaśnej (ryc. 5) — silny, w wielu miejscach dyfuzyjny. Również bardzo wzmożony, nierównomiernie rozmieszczony był odczyn na aktywność ATP-azy (ryc. 6). Reakcja na aktywność dehydrogenazy bursztynianowej wykazywała ogólne osłabienie, ogniskowo tylko intensywna, zwłaszcza w okolicach przestrzeni bramnych. Stopień zmian przypominał obserwowane obrazy z serii B zwierząt nie operowanych.

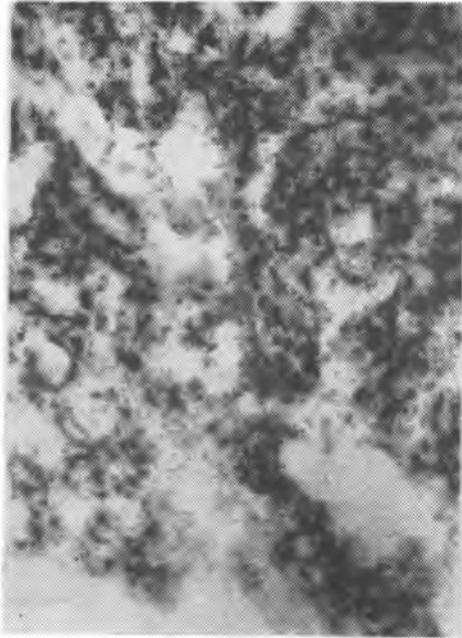
DYSKUSJA I WNIOSKI

Acetazolamid należy do grupy inhibitorów karboanhidrazy węglanowej w kanalikach nerkowych. Wywołuje diurezę przez wydalanie elektrolitów, zmniejsza resorpcję zwrotną sodu, w mniejszym stopniu potasu i wapnia, zwiększa wtórne wydalanie wody. Stwierdzono, że nie zmieniając ultrafiltracji kłębkowej, zmniejsza wchłanianie zwrotne w cewkach krętych I rzędu (6). Korzystnie działa w zaburzeniach gospodarki wodno-mineralnej i białkowej (1, 2) i dzięki tym właściwościom podawany jest jako lek w stanach wymagających obniżenia ciśnienia płynów śródgałkowego i błędnikowego, w jaskrze pierwotnej i wtórnej, w chorobie Meniera, szeroko stosowany jest przy występowaniu obrzęków pochodzenia sercowego, nerkowego i wątrobowego. Zmniejsza pobudliwość ruchową kory mózgowej, wywołując efekt przeciwdrgawkowy i zapobiegając występowaniu petit mal. Znajduje zastosowanie w leczeniu chorób skóry, którym towarzyszą obrzęki, w schorzeniach układu oddechowego (rozedma płuc, dychawica oskrzelowa), w leczeniu stanów przedrzucawkowych i w tężycze.

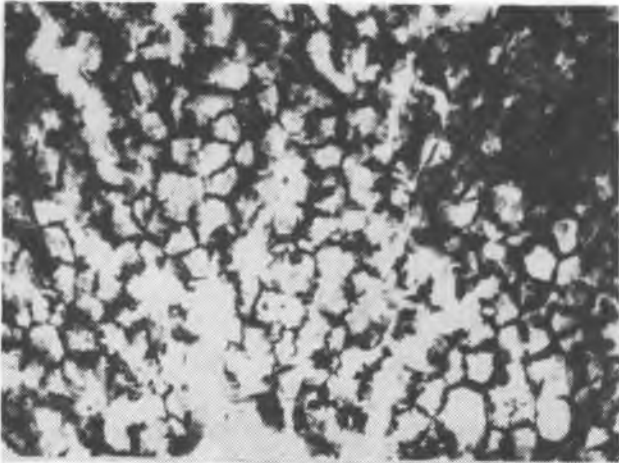
Tak szerokie kliniczne stosowanie Acetazolamidu (5) stwarza konieczność wszechstronnego przebadania jego działania, tym bardziej że wśród przeciwwskazań podawania tego leku wymienia się ostrą niewydolność nerek i wątroby. W badaniach przeprowadzonych przez nas, stwierdzić można, że niskie dawki Diuramidu „Polfa” (3,5 mg/kg m.c.) nie wywołują ujemnego wpływu na miąższ wątroby w żadnej z obserwowanych grup doświadczalnych. Natomiast duże dawki (35 mg/kg m.c.) powodowały wyraźne zmiany patologiczne — obserwowano obrzęk, poszerzenie przestrzeni okołoboleczkowych, nacieki zapalne okrągłokomórkowe, częste występowanie hepatocytów dwujądźrzastych. Zmianom tym towarzyszyły zaburzenia aktywności enzymów hydrolitycznych. Obserwowano powiększenie aparatu lizosomalnego, niejednokrotnie odczyn dyfuzyjny po wykonaniu reakcji na aktywność fosfatazy kwaśnej, świadczący o uszkodzeniu błon lizosomów. Również chondriom komórkowy uległ zmianom, wystąpiło wyraźne zahamowanie aktywności dehydrogenazy bursztynianowej — markera błony wewnętrznej mitochondrium. Obniżenie pyroninochłonności cytoplazmy i zmiany w jądrach komórkowych świadczą o zaburzeniu przemiany białkowej w hepatocytach. Znany jest wpływ Diuramidu na błony komórkowe i przemianę białkową w nerce (1). Prawdopodobnie zaburzenia w reakcji na aktywność ATP-azy i w odczynach na kwasy nukleinowe są wyrazem podobnego działania leku w komórce wątrobowej. Leki inaktywujące karboanhidrazę węglanową (Diamoks, Diuramid) wywołują poprzez diurezę dwuwęglanową kwasicę metaboliczną (3). Uszkodzenie miąższu wątrobowego przez duże dawki Diuramidu moż-



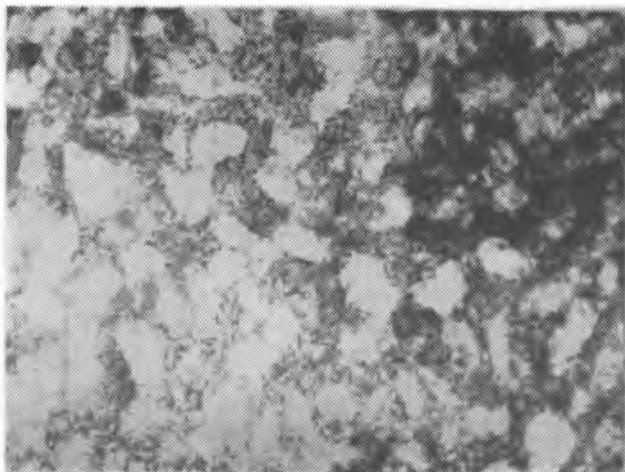
Ryc. 1



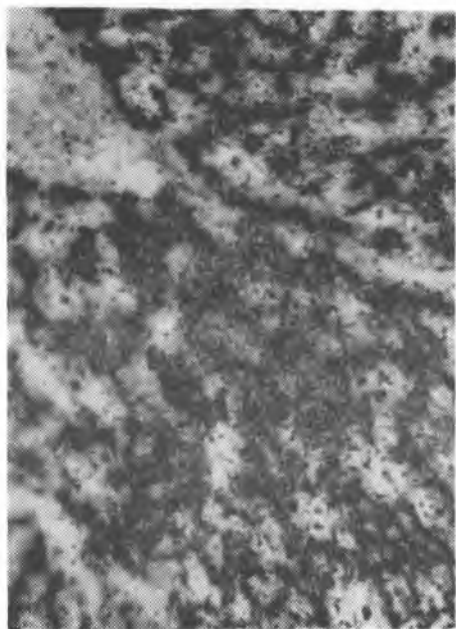
Ryc. 2



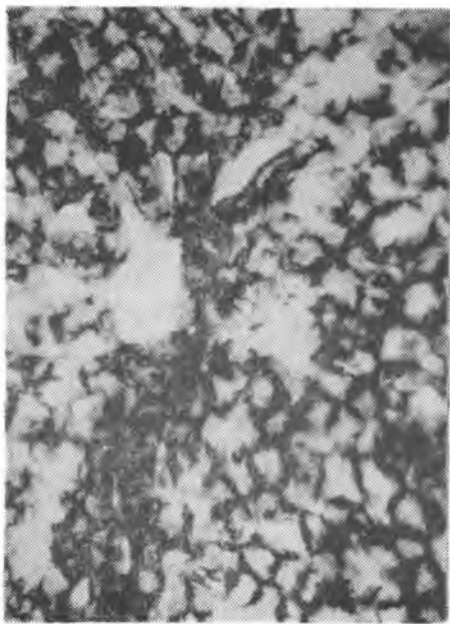
Ryc. 3



Ryc. 4



Ryc. 5



Ryc. 6

na również tłumaczyć długotrwałymi zmianami pH ustroju, co również wywiera wpływ na metabolizm komórek wątrobowych. Równocześnie stwierdzono, że fizjologiczny, silny odczyn na glikogen w hepatocytach obniżył się we wszystkich strefach gronek. Suma tych zjawisk świadczy o ujemnym wpływie dużych dawek Diuramidu na wątrobę.

Interesujące jest zaobserwowanie faktu, że wątroba zwierząt po jednostronnej nefrektomii reagowała w ten sam sposób co narząd szczurów mających obie nerki. Nie stwierdzono różnic w grupach zwierząt operowanych i nie operowanych. Praktyczny wniosek, jaki można wyprowadzić z prowadzonych przez nas obserwacji, jest następujący: Acetazolamid można stosować u osób z wyłączoną funkcją jednej nerki bez obawy, że przyczyni się to do większego uszkodzenia wątroby.

PIŚMIENNICTWO

1. Gunn J. A.: An Introduction to Pharmacology and Therapeutics. Oxford Medical Publications 1978.
2. Korolkiewicz K. Z.: Farmakologiczne badania preparatu Diuramid „Polfa” — praca wykonana na zlecenie SZF „Polfa” w Instytucie Patologii Akad. Med. w Gdańsku, 1979.
3. Nowak S. i wsp.: W sprawie stosowania Diuramidu w przewlekłej zapornej niewydolności oddechowej. Wiad. Lek. 19, 1701, 1974.
4. Pearse A. G. E.: Histochemistry. Churchill Ltd. 1977.
5. Podlewski J. K. i wsp.: Leki współczesnej terapii. PZWL, 3, Warszawa 1978.
6. Staszyc J. i wsp.: Badania cytofizjologiczne nad wpływem Diuramidu na nerki szczura. Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Lublin, Sectio D 36, 105, 1981.
7. Zawistowski S.: Histochemiczne metody. PZWL, Warszawa 1976.

Otrzymano 11 XII 1980.

OBJAŚNIENIA RYCIN

Ryc. 1. Wątroba szczura nie operowanego. Acetazolamid podawany w dawce 35 mg/kg m.c. Barwienie hematoksyliną i eozyną. Pow. ca. 80X.

Ryc. 2. Wątroba szczura nie operowanego. Acetazolamid podawany w dawce 35 mg/kg m.c. Reakcja na aktywność fosfatazy kwaśnej wg Gomoriego. Pow. ca. 80X.

Ryc. 3. Wątroba szczura nie operowanego. Acetazolamid podawany w dawce 35 mg/kg m.c. Reakcja na aktywność ATP-azy wg Wachsteina i Meisel. Pow. ca. 80X.

Ryc. 4. Wątroba szczura nie operowanego. Acetazolamid podawany w dawce 35 mg/kg m.c. Reakcja na aktywność dehydrogenazy bursztynianowej wg Nachläsa. Pow. ca. 80X.

Ryc. 5. Wątroba szczura po nefrektomii. Acetazolamid podawany w dawce 35 mg/kg m.c. Reakcja na aktywność fosfatazy kwaśnej wg Gomoriego. Pow. ca. 80X.

Ryc. 6. Wątroba szczura po nefrektomii. Acetazolamid podawany w dawce 35 mg/kg m.c. Reakcja na aktywność ATP-azy wg Wachsteina i Meisel. Pow. ca. 80X.

РЕЗЮМЕ

Используя гистохимические методы, авторы исследовали ткань печени белых крыс, подвергнутых экспериментальному применению Ацетазоламида и односторонней нефрэктомии. Было произведено противодействие активности гидролитических и дыхательных энзимов на полисахариды и нуклеиновые кислоты. На основании проведенных исследований влияния нефрэктомии на изменения в печени, вызванные действием Ацетазоламида, не обнаружено. Это дает авторам основание предполагать, что вышеупомянутое лекарство можно применять в состояниях исключения работы одной почки.

SUMMARY

The investigations have been carried out on rat livers after a nephrectomy and experimental administration of Acetazolamide. Histochemical reactions to the activities of some hydrolytic and respiratory enzymes as well as reactions for polysaccharides and nucleic acids have been performed. The influence of a nephrectomy on changes in the liver brought about by Acetazolamide has not been found during the conducted observations. On this basis we can assume that Acetazolamide may be administered during the exclusion of the function of one of the kidneys.

EXPLANATION TO FIGURES

Fig. 1. The liver of an unoperated rat. Acetazolamide administered in a dose of 35 mg/kg b.w. The preparation was stained with hematoxylin and eosin. Magn. approx. 80X.

Fig. 2. The liver of an unoperated rat. Acetazolamide administered in a dose of 35 mg/kg b.w. Reaction to acid phosphatase activity. Method acc. to Gomori. Magn. approx. 80X.

Fig. 3. The liver of an unoperated rat. Acetazolamide administered in a dose of 35 mg/kg b.w. Reaction to ATP-ase activity. Method acc. to Wachstein-Meisel. Magn. approx. 80X.

Fig. 4. The liver of an unoperated rat. Acetazolamide administered in a dose of 35 mg/kg b.w. Reaction to succinic dehydrogenase activity. Method acc. to Nachlas. Magn. approx. 80X.

Fig. 5. The liver of a rat after nephrectomy. Acetazolamide administered in a dose 35 mg/kg b.w. Reaction to acid phosphatase activity. Method acc. to Gomori. Magn. approx. 80X.

Fig. 6. The liver of a rat after nephrectomy. Acetazolamide administered in a dose of 35 mg/kg b.w. Reaction to ATP-ase activity. Method acc. to Wachstein-Meisel. Magn. approx. 80X.