

Katedra i Zakład Histologii i Embriologii z Pracownią Cytologii Doświadczalnej. Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: prof. dr hab. n. med. Irena Królikowska-Prasal

Jadwiga ROMANOWSKA, Ewa KIFER-WYSOCKA,
Włodzimierz MATYSIAK

Obraz histochemiczny nerki ciężarnych szczurzyce poddanych działaniu wibramycyny

Histochemical Picture of Female Rat Kidney Subjected to the Action of Vibramycine

Wibramycyna (doksycyklina) jest syntetyczną pochodną oksytetracykliny, wykazuje szeroki zakres działania bakteriostatycznego, co daje pozytywne wyniki w zwalczaniu szeregu infekcji (5, 6, 9, 13—15).

Antybiotyki z grupy tetracyklin poza oddziaływaniem na drobnoustroje mogą wywierać szkodliwy wpływ na organizm gospodarza (2—4, 10, 11). Główną drogą wydalania ich z ustroju są nerki — narządy dobrze unaczynione, wykazujące wysoką aktywność metaboliczną dzięki obecności szeregu układów enzymatycznych wrażliwych na działanie leków i toksyn. Sprzyja to koncentracji tych związków w nerce (5, 14).

Postanowiono prześledzić wpływ wibramycyny, podawanej w różnych okresach ciąży, na reakcje histochemiczne w nerce samic szczura białego.

MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na samicach szczurów, szczepu Wistar, o masie ciała 180—250 g. Samice otrzymywały wibramycynę (prod. „Polfa” — Tarchomin) w dawce dziennej 4 mg/kg m.c. Lek podawano dożołądkowo, sondą, w zawieszynie wodnej o objętości 1 ml.

Zwierzęta podzielono na 3 grupy kontrolne i 3 grupy doświadczalne. Grupy kontrolne: I — samice nie otrzymujące leku, II — samice otrzymujące lek, III — samice ciężarne. Grupy doświadczalne: I — samice ciężarne otrzymujące lek, II — samice otrzymujące lek w I połowie ciąży, III — samice otrzymujące lek w II połowie ciąży. Po upływie 24 godz. od ostatniego podania leku pobierano wycinki lewej nerki do badań. Przeprowadzono barwienie przeglądowe H + E, barwienie wielocukrów reakcją PAS według McManusa, oznaczono aktywność LDH według metody Pearse'a, SDH według metody Nachlasa i wsp. oraz fosfatazy zasadowej według metody Gomoriego i ATP-azy według metody Wachsteina i Meisel.

WYNIKI BADAŃ

Barwienie H + E

W grupie I kontrolnej obserwowano typową strukturę kanalików i ciałek nerkowych (ryc. 1). U samic otrzymujących lek (grupa II kontrolna) i ciężarnych (grupa III kontrolna) wystąpiło niewielkie poszerzenie światła kanalików nerkowych.

W nerkach zwierząt grup doświadczalnych poszerzenie światła kanalików było wyraźniejsze niż w grupach kontrolnych (ryc. 2). Ponadto zauważono miejscowo mniej zwarty układ kanalików oraz komórki jednojądrzaste i erytrocyty w przestrzeniach międzykanalikowych.

Reakcja PAS na wielocukry

Reakcję PAS-dodatnią obserwowano w rąbku szczoteczkowym kanalików głównych, ciałkach nerkowych i błonach podstawnych kanalików. Najintensywniejsze wybarwienie rąbka było w grupie III kontrolnej (samice ciężarne).

U samic z grup doświadczalnych obserwowano intensywniejszą reakcję PAS w rąbku szczoteczkowym kanalików głównych i ciałkach nerkowych niż u samic z grup kontrolnych.

Dehydrogenaza bursztynianowa (SDH)

W grupach kontrolnych pozytywny odczyn na SDH wykazały komórki nabłonka kanalików nerkowych. Cytoplazmę komórek gęsto wypełniały ziarenka formazanów. W ciałkach nerkowych reakcja na SDH była śladowa. W grupie III kontrolnej (samice ciężarnych) obserwowano wyższą aktywność enzymu (ryc. 3).

W nerkach zwierząt grup I i II doświadczalnych (lek podawany przez cały okres ciąży i w I połowie) intensywność reakcji była podobna do obserwowanej w grupie III kontrolnej (ciąża). Natomiast w nerkach samic ciężarnych otrzymujących lek w II połowie ciąży (grupa III doświadczalna) reakcja na aktywność SDH była lekko wzmożona (ryc. 4).

Dehydrogenaza mleczanowa (LDH)

Intensywny odczyn na aktywność LDH ujawnił się w komórkach nabłonka kanalików nerkowych i słabszy w ciałkach nerkowych. Nasilenie odczynu w nerkach u samic kontrolnych ciężarnych i nieciężarnych (grupy I i III kontrolne) było podobne (ryc. 5). Natomiast u samic kontrolnych otrzymujących lek (grupa II) obserwowano obniżenie reakcji enzymatycznej (ryc. 6).

U samic z grup doświadczalnych (ciężarnych otrzymujących lek) na ogół aktywność LDH była podobna jak u samic kontrolnych nie otrzymujących leku (ryc. 7) lub nieco delikatniejsza w grupie II doświadczalnej (lek podawany w I połowie ciąży).

Fosfataza zasadowa

Pozytywny odczyn na aktywność fosfatazy zasadowej zlokalizowany był w rąbku szczoteczkowym komórek kanalików głównych nerki. Najłabszą reakcję enzymatyczną obserwowano w grupie I kontrolnej (samice nieciążarne, bez leku), silniejszą w grupie kontrolnej II (lek), najsilniejszą u samic ciężarnych (grupa III kontrolna) — ryc. 8.

U zwierząt z grup doświadczalnych obserwowano wzmoczenie intensywności reakcji w nefronach, najbardziej uwidocznione w grupie III doświadczalnej (lek podawany w II połowie ciąży) — ryc. 9.

Adenozyno-trójfosfataza

Odczyn na ATP-azę zlokalizowany był w ciątkach nerkowych, ścianach naczyń krwionośnych i rąbku szczoteczkowym kanalików głównych. Słaba reakcja enzymatyczna wystąpiła w błonach podstawnych kanalików (ryc. 10). W grupach I i II kontrolnych intensywność reakcji była podobna, a w grupie III kontrolnej (ciąża) obserwowano nasilenie reakcji w kłębkach i delikatną reakcję w rąbku szczoteczkowym kanalików nerkowych.

U samic z grup doświadczalnych w nerkach nastąpiło niewielkie wzmoczenie intensywności reakcji enzymatycznej na ATP-azę (ryc. 11).

OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ

W wyniku przeprowadzonego eksperymentu stwierdzono w nerkach samic ciężarnych z grupy kontrolnej — w porównaniu do samic kontrolnych nieciążarnych — poszerzenie światła kanalików nerkowych jak również wzmoczenie reakcji histochemicznych: SDH, fosfatazy zasadowej, ATP-azy oraz intensywniejszą reakcją na wielocukry w rąbku szczoteczkowym kanalików głównych nerki.

Ciąża jest okresem wymagającym dużej ostrożności w stosowaniu leków. Stwierdzono, że stopień wiązania leków z białkami osocza krwi zmniejsza się stopniowo w przebiegu ciąży. Jest to jedną z przyczyn obserwowanego wzrostu przepuszczalności bariery łożyskowej dla leków w późniejszych okresach ciąży (14). W ciąży zwiększa się objętość krążącej krwi, co powoduje, że większe ilości substancji zawartych w niej przechodzą przez kłębki nerkowe (1, 7, 11), również

aktywność fosfatazy zasadowej w surowicy krwi podnosi się równoległe do rozwoju ciąży (8, 12). Poszerzenie światła kanalików oraz wzrost aktywności badanych enzymów w czynnych częściach nefronów może być wyrazem wzmożonej resorpcji w kanalikach nerkowych.

W nerkach samic kontrolnych (nieciążarnych) otrzymujących wibramycynę w dawce 4 mg/kg m.c. w ciągu doby obserwowano jedynie wzrost odczynu na fosfatazę zasadową w rąbku szczoteczkowym kanalików głównych nerki i poszerzenie ich światła.

U samic doświadczalnych (ciążarnych) otrzymujących lek w różnych okresach ciąży, podobnie jak u samic ciężarnych nie otrzymujących leku (grupa III kontrolna), obserwowano w czynnych częściach nefronów nasilenie reakcji enzymatycznych głównie fosfatazy zasadowej i SDH, jak również ATP-azy i reakcji PAS. Wzmożenie aktywności badanych enzymów oraz poszerzenie światła kanalików nerkowych ujawniło się najwyraźniej u samic otrzymujących wibramycynę w II połowie ciąży.

Fosfataza zasadowa i ATP-aza zaangażowane są w procesy transportu aktywnego przez błony komórkowe. Wzrost reakcji na SDH świadczy o nasileniu się metabolizmu tlenowego, a energia wyzwolona zużywana jest głównie do syntezy ATP. Łącząc wzrost aktywności SDH ze wzrostem aktywności ATP-azy i fosfatazy zasadowej można wnioskować o zwiększonych nakładach energetycznych komórki w proces resorpcji zwrotnej, co sugerują i inni (16).

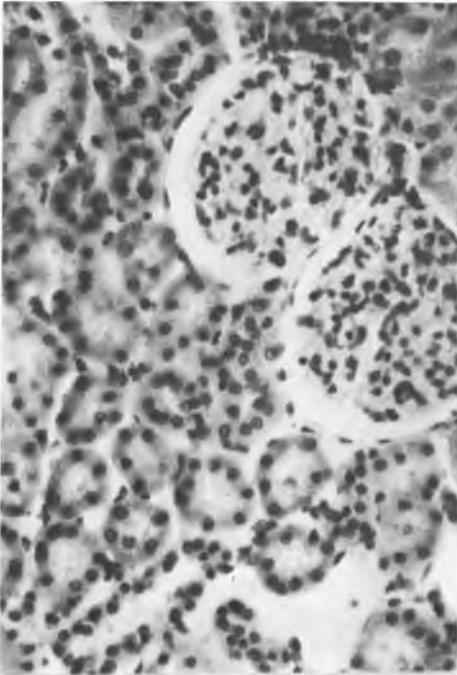
Wnioski

1. Obraz histologiczny i reakcje histochemiczne (poszerzenie światła kanalików, fosfataza zasadowa, ATP-aza, SDH, PAS) wskazują na wzmożoną czynność nerek w okresie ciąży.

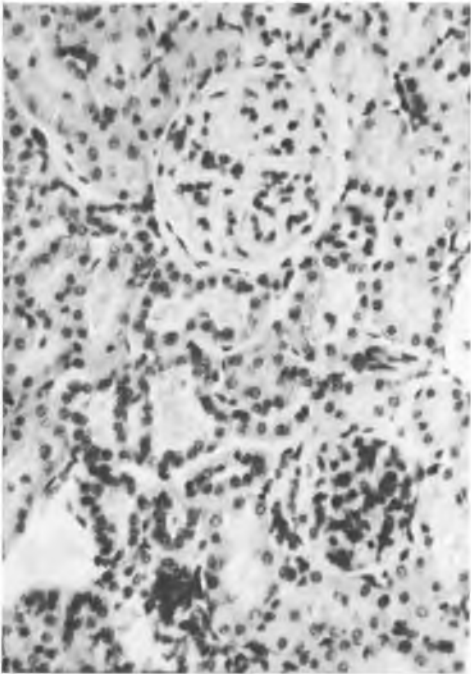
2. Wibramycyna podawana nieciążarnym samicom szczurów w dawce 4 mg/kg m.c./dobę przez 21 dni powodowała nasilenie aktywności fosfatazy zasadowej w rąbku szczoteczkowym kanalików głównych nerki i niewielkie poszerzenie światła tych kanalików, co sugeruje nieznaczne wzmożenie czynności części proksymalnej nefronu.

3. Podawanie wibramycyny samicom, w II połowie ciąży powodowało niewielkie wzmożenie aktywności fosfatazy zasadowej, ATP-azy, SDH, co wskazuje na nasilenie procesów energetycznych i wchłaniania zwrotnego w kanalikach nerkowych.

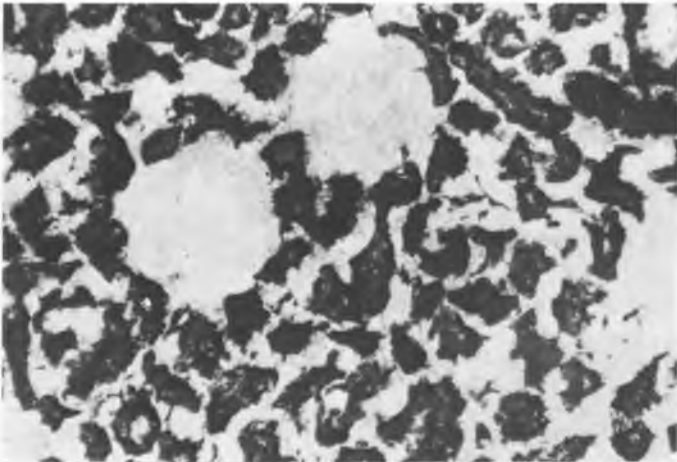
4. Można przypuszczać, że wibramycyna, wzmagając w niewielkim stopniu metabolizm nefronu, nie zaburza w sposób istotny czynności nerek.



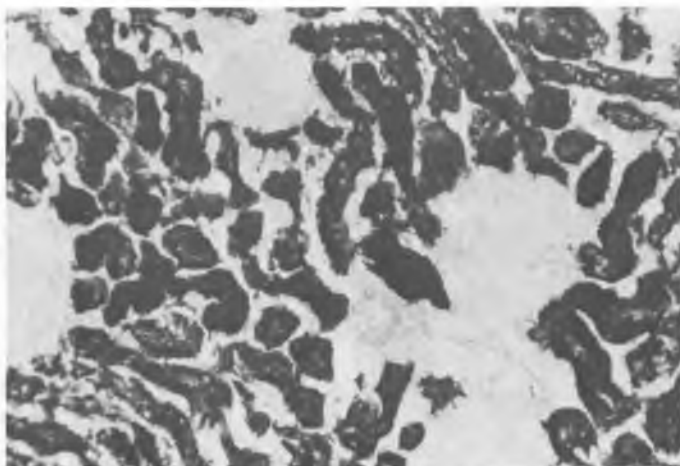
Ryc. 1



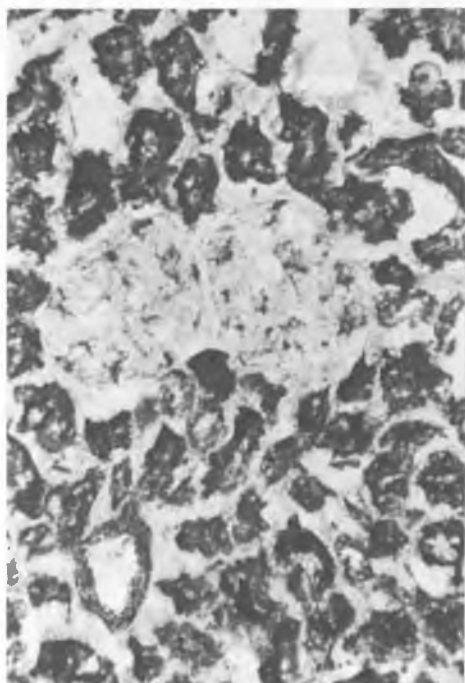
Ryc. 2



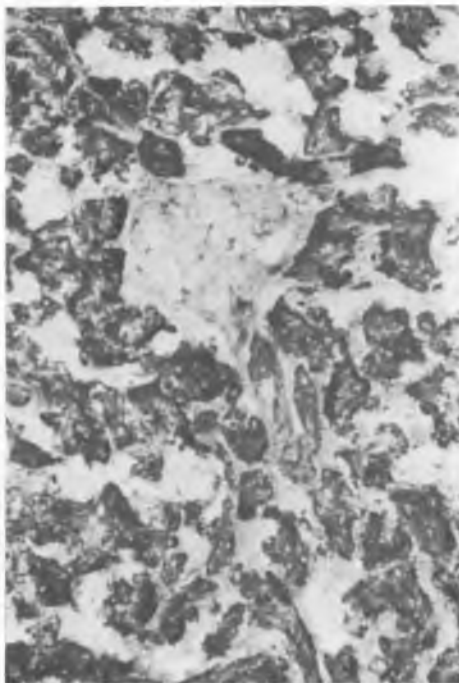
Ryc. 3



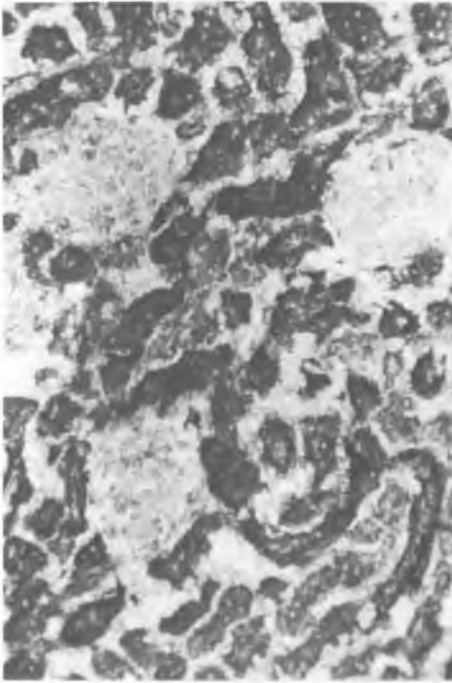
Ryc. 4



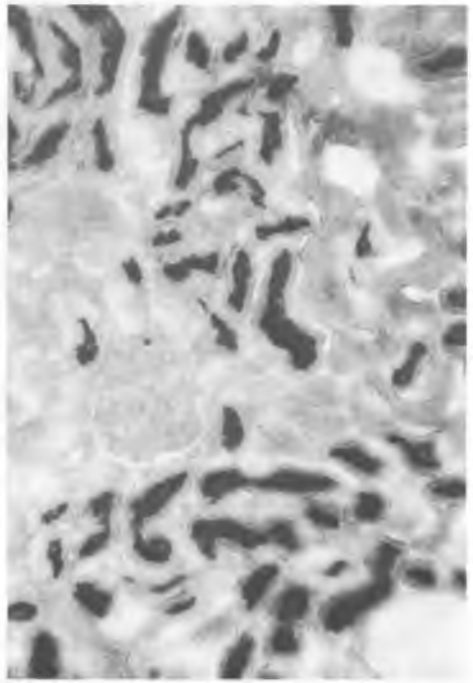
Ryc. 5



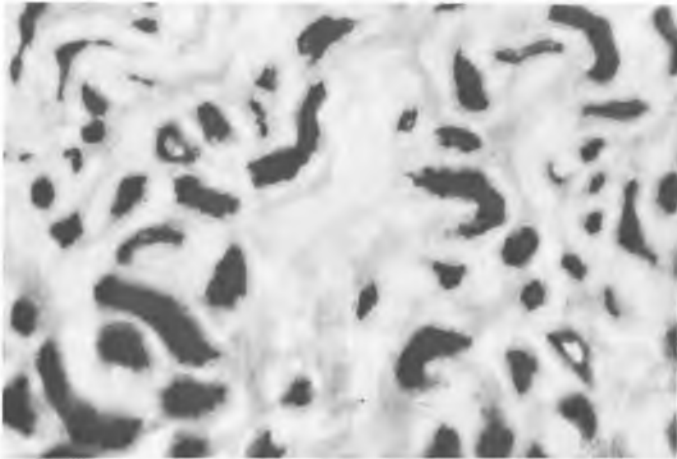
Ryc. 6



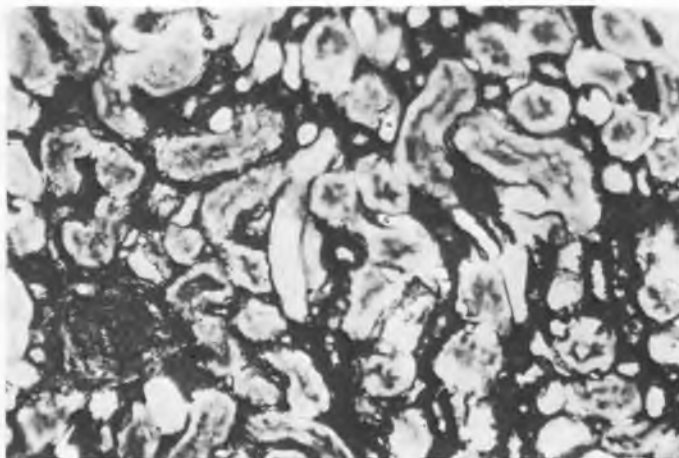
Ryc. 7



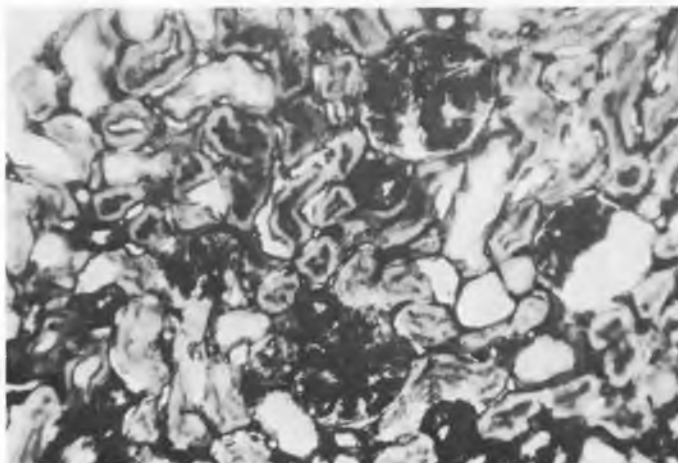
Ryc. 8



Ryc. 9



Ryc. 10



Ryc. 11

PIŚMIENNICTWO

1. Berlyne G. M.: Choroby nerek. PZWL, Warszawa 1970.
2. Bielański W.: Wpływ oxytetracyliny na wątrobę szczura białego. *Acta Biol. et Med.* **14**, 3, 1969.
3. Cencora A. i wsp.: Ostra niewydolność nerek w wyniku przedawkowania oxytetracyliny. *Ped. Pol.* **14** (1), 73, 1970.
4. Gawęcka I. i wsp.: Wpływ niektórych antybiotyków na zmiany czynnościowe i morfologiczne nerek u zwierząt doświadczalnych. *Pol. Archiw. Med. Wewn.* **35**, 627, 1965.
5. Jeliaszewicz J.: Tetracykliny, obecny stan wiedzy. [w:] Materiały Konferencji Zorganizowanej przez Komisję Leków i Tarchomińskie Zakłady Farmaceutyczne „Polfa” 1980. Warszawa 1982.
6. Kornacka Z. i wsp.: Wyniki stosowania wibramycyny w położnictwie i ginekologii. *Wiad. Lek.* **23** (10), 833, 1970.
7. Kuczyńska-Sicińska J.: Problemy nefrologiczne ciąży. *Pol. Arch. Med. Wewn.* **50** (2) 221, 1973.
8. Kudła T., Wroński W.: Współzależność między poziomem fosfatazy zasadowej a okresem ciąży prawidłowej. *Gin. Pol.* **8**, 179, 1960.
9. Kuryłowicz W.: Antybiotyki. Aktualny stan wiedzy. PZWL, Warszawa 1978.
10. Okła J.: Stosowanie niektórych leków u kobiet w okresie ciąży i karmienia. *Pol. Tyg. Lek.* **27** (92), 2073, 1972.
11. Orłowski T.: Choroby nerek. PZWL, Warszawa 1983.
12. Roszkowski L., Wójcicka J.: Zachowanie się fosfatazy alkalicznej w I, II, III trymestrze ciąży prawidłowej. *Gin. Pol.* **37**, 265, 1966.
13. Sobczewski W.: Pochodne antybiotyków tetracyklinowych. *Farm. Pol.* **8**, 363, 1968.
14. Tatoń J.: Kliniczna farmakologia niepożądanego działania leków. PZWL, Warszawa 1985.
15. Vibramycin. 10 lat doświadczeń klinicznych w Polsce. „Polfa” Warszawa.
16. Vorbrodt A.: Histochemia fosfatyz. [w:] Topochemiczne metody badań komórek i tkanek. Pod red. A. Krygier-Stojałowskiej i H. Godlewskiego. PWN, Warszawa 1975, ss. 447—476.

Otrzymano 1991.10.12.

OBJAŚNIENIA RYCIN

- Ryc. 1. Grupa kontrolna. Nerka szczura. Barwienie H+E. Pow. ok. 80 × .
- Ryc. 2. Grupa III doświadczalna. Nerka szczura. Barwienie H+E. Pow. ok. 80 × .
- Ryc. 3. Grupa III kontrolna (ciąża). Nerka szczura. Odczyn na aktywność SDH według metody Nachlasa i wsp. Pow. ok. 40 × .
- Ryc. 4. Grupa III doświadczalna. Nerka szczura. Odczyn na aktywność SDH według metody Nachlasa i wsp. Pow. ok. 40 × .
- Ryc. 5. Grupa III kontrolna (ciąża). Nerka szczura. Odczyn na aktywność LDH według metody Pearse'a. Pow. ok. 40 × .
- Ryc. 6. Grupa II kontrolna (lek). Nerka szczura. Odczyn na aktywność LDH według metody Pearse'a. Pow. ok. 40 × .
- Ryc. 7. Grupa II doświadczalna. Nerka szczura. Odczyn na aktywność LDH według metody Pearse'a. Pow. ok. 40 × .
- Ryc. 8. Grupa III kontrolna (ciąża). Nerka szczura. Odczyn na aktywność fosfatazy zasadowej według metody Gomoriego. Pow. ok. 40 × .
- Ryc. 9. Grupa III doświadczalna. Nerka szczura. Odczyn na fosfatazę zasadową według metody Gomoriego. Pow. ok. 40 × .
- Ryc. 10. Grupa kontrolna. Nerka szczura. Odczyn na aktywność ATP-azy według metody Wachsteina i Meisel. Pow. ok. 40 × .

Ryc. 11. Grupa I doświadczalna. Nerka szczura. Odczyn na aktywność ATP-azy według metody Wachsteina i Meisel. Pow. ok. 40 × .

SUMMARY

Female rats were given intragastrically, by means of a probe, Vibramycine in suspension, in a dose 4 mg/kg body weight, in different stages of pregnancy. On kidney sections there were performed: H + E staining, PAS reaction, histochemical determination of enzymes activity: alkaline phosphatase, ATP-ase, SDH and LDH. In non-pregnant females receiving the drug there was observed an intensification of alkaline phosphatase activity in brush border of main tubules of the kidney and a slight broadening of the light of the tubules. In pregnant females receiving the drug, most clearly in the second half of pregnancy a slight intensification of the activity of the examined enzymes was observed.

EXPLANATION TO FIGURES

Fig. 1. Control group. The kidney of the rat. Staining H + E. Magn. ca 80 × .

Fig. 2. Experimental group. The kidney of the rat. Staining H + E. Magn. ca 80 × .

Fig. 3. Control group III (pregnancy). The kidney of the rat. Reaction to SDH — Nachlas et al. method. Magn. ca 40 × .

Fig. 4. Experimental group III. The kidney of the rat. Reaction to SDH — Nachlas et al. method. Magn. ca 40 × .

Fig. 5. Control group III (pregnancy). The kidney of the rat. Reaction to LDH — Pearse method. Magn. ca 40 × .

Fig. 6. Control group (drug). The kidney of the rat. Reaction to LDH — Pearse method. Magn. ca 40 × .

Fig. 7. Experimental group II. The kidney of the rat. Reaction to LDH — Pearse method. Magn. ca 40 × .

Fig. 8. Control group III (pregnancy). The kidney of the rat. Reaction to alkaline phosphatase — Gomori method. Magn. ca 40 × .

Fig. 9. Experimental group III. The kidney of the rat. Reaction to alkaline phosphatase — Gomori method. Magn. ca 40 × .

Fig. 10. Control group. The kidney of the rat. Reaction to ATP-ase — Wachstein and Meisel method. Magn. ca 40 × .

Fig. 11. Experimental group I. The kidney of the rat. Reaction to ATP-ase — Wachstein and Meisel method. Magn. ca 40 × .