

Zakład Histologii i Embriologii. Instytut Biologiczno-Morfologiczny.  
Akademia Medyczna w Lublinie  
Kierownik: prof. dr hab. n. med. Józef Staszyc

Ewa JACH, Józef STASZYC,  
Anna TOMASZEWSKA

**Badania nad wpływem utrudnionego odpływu moczu na zachowanie się  
enzymów w nabłonku moczowodów**

Исследование влияния затрудненного мочевого выделения на поведение энзимов  
в эпителии мочеточников

Effect of Impedance in Urination on the Behaviour of Enzymes in the Epithelium  
of the Ureter

Zmiany nefronów spowodowane przeszkodami pozanerkowymi, utrudniającymi odpływ moczu, znane są zarówno z danych histopatologicznych, jak i eksperymentalnych (2, 3). W naszym doświadczeniu natomiast przedstawiamy zachowanie się komórek nabłonka moczowodów w warunkach zespołu dolnej przeszkody, z którą spotykają się klinicyści (8).

**MATERIAŁ I METODY BADAŃ**

Doświadczenia przeprowadzono na dojrzałych szczurach, samcach, szczepu Wistar. W ogólnej narkozie eterowej otwierano jamę brzuszną wzdłuż linii przyprostnej lewej, w odległości ok. 2,5—3 cm poniżej bieguna dolnego nerki i podwiązywano moczowód lewy, aż do całkowitego zamknięcia światła. Równocześnie szczurom kontrolnym wykonywano laparotomię próbną. W różnym czasie po operacji zwierzęta dekapitowano. Celem ustalenia czasu dla grup doświadczalnych badania poprzedzono eksperymentem pilotowym, w którym obserwowano kliniczne zachowanie się szczurów po założeniu opaski uciskowej. Zauważono, że w drugim etapie doświadczenia zwierzęta wykazywały niepokój, co związane było z atakami bólu (po 6 godz.). We właściwym doświadczeniu wyodrębniono następujące grupy:

- grupę I doświadczalną — 3 godz. od chwili podwiązania moczowodu;
- grupę II doświadczalną — 6 godz. od chwili podwiązania moczowodu;
- grupę III doświadczalną — 12 godz. od chwili podwiązania moczowodu;
- grupę IV doświadczalną — 24 godz. od chwili podwiązania moczowodu;
- grupę V doświadczalną — 3 doby od chwili podwiązania moczowodu.

Każdą grupę tworzyły 3 szczury doświadczalne i 1 szczur kontrolny. Po zabiegu obserwowano zachowanie się zwierząt, a w czasie sekcji zwracano uwagę na stopień zmian w moczowodzie i w nerce.

Do badań pobierano wycinek moczowodu znajdujący się powyżej przeszkody — podwiązki. Część każdego moczowodu utrwalano w płynach Bakera, Carnoya i w zobojętnionej formalinie, a następnie zatapiało w parafinie. Skrawki parafinowe barwiono hematoksyliną i eozyną oraz wg metody Massona. Wykonano odczyny na fosfatazę kwaśną wg metody Gomoriego, na RNA wg metody Bracheta oraz barwiono metodą PAS.

#### BADANIA WŁASNE

U szczurów kontrolnych moczowód zbudowany był z nabłonka przejściowego, błony śluzowej, mięśniówki właściwej i przydanki (ryc. 1). Przy zastosowaniu barwienia HE oraz wg metody Massona (ryc. 2) nie znaleziono błony podstawowej nabłonka oraz warstwy mięśniowej błony śluzowej. Komórki nabłonka układały się w kilka szeregów. W obrębie komórek baldaszkowatych występowały często podwójne jądra. W wielu z nich obserwowano jąderka. Na wolnej powierzchni komórek baldaszkowatych wybarwiono warstewkę śluzową określaną przez jednych autorów jako *crusta*, glikokaliks, a przez innych — *surface mucous coat*. Z licznych naczyń krwionośnych podnabłonkowych odchodziły gałązki włosowate, które wnikały pomiędzy komórki warstwy podstawowej nabłonka. Barwienie wg metody PAS wykazało odczyny u podstawy nabłonka, które mogły wskazywać na obecność cienkiej błony, przerywanej przez liczne kapilary (ryc. 3). Dobrze widoczny był również odczyn PAS na powierzchni komórek baldaszkowatych, gdyż wybarwiał warstewkę śluzową (ryc. 3). Najślabszą reakcją PAS dała mięśniówka właściwa. Metodą wg Bracheta wykazano chromatynę jądra, układającą się w sąsiedztwie otoczki jądrowej, kwas rybonukleinowy w cytoplazmie oraz jąderka. Stopień wybarwienia jąderek i RNA cytoplazmatycznego był podobny. Stan ten stwierdzono przede wszystkim w komórkach walcowatych i wielobocznych warstw podstawowej i środkowej nabłonka. Pozytywna reakcja na FK uwidoczniła się równomiernie w cytoplazmie wszystkich komórek nabłonka. Miała ona wygląd delikatnych drobnoziarnistych struktur. Ujemną reakcją na FK obserwowano w glikokaliksie oraz pozostałych warstwach moczowodu (ryc. 4).

U zwierząt eksperymentalnych światło moczowodu było poszerzone, najmniej intensywnie po 6 godz., co może świadczyć o odruchach obronnych — adaptacyjnych, najintensywniejszych w tym czasie. W poszczególnych grupach doświadczalnych barwienia HE i wg metody Massona ujawniły ścięczenie uciśniętego przez mocz nabłonka i błony śluzowej (ryc. 5, 11). Zmianom tym towarzyszyło znaczne stopnia poszerzenie

naczyń krwionośnych i wypełnienie ich elementami morfotycznymi krwi (ryc. 6). Pojawiły się nacieki zapalne, zwłaszcza okołonaczyniowe, w błonie śluzowej. W świetle moczowodu znajdowało się dużo złuszczonej komórek (ryc. 12, 14).

W grupach doświadczalnych I i II komórki baldaszkowate były już nieco spłaszczone (ryc. 7, 8), a w III, IV i V nabłonek uległ wyraźnemu rozciągnięciu i układał się w dwa szeregi komórek (ryc. 11). Powierzchnowy utworzyły komórki baldaszkowate, a głębszy — nieregularne komórki, w których jądro położone było centralnie. Cytoplazma niektórych komórek dawała dyfuzyjne wybarwienie. W komórkach ostatnich grup doświadczalnych obserwowano zmiany — od przyćmienia mięszonego aż do gruboziarnistej struktury cytoplazmy. W nabłonku grupy IV występowały zespoły komórek, gdzie niewidoczne były między nimi granice, a jądra wykazywały zmniejszoną barwliwość oraz zatarcie struktury (ryc. 9). Spotykano też komórki z cechami zwyrodnienia wodniczkowego. W tej grupie komórek niektóre jądra miały nieregularne kontury. Już od grupy II zauważono zniszczenie ochronnego płaszcza śluzowego glikokaliksu (ryc. 5). W następstwie tego wystąpiły przesunięcia, a nawet odrywanie się komórek od nabłonka (ryc. 10). W porównaniu z kontrolnymi u zwierząt doświadczalnych wystąpił nierównomierny odczyn PAS. W grupach I, II i III był on bardziej intensywny w cytoplazmie komórek warstwy powierzchniowej. Natomiast w grupach IV i V obserwowano fragmenty nabłonka, gdzie odczyny PAS na całej jego grubości były ujemne (ryc. 12). Również nierównomierne reakcje dało barwienie na RNA (ryc. 13). We wszystkich grupach doświadczalnych wzrosły odczyny na FK (ryc. 14). W grupach I, II i III dominował odczyn ziarnisty, natomiast w IV i V przeważał dyfuzyjny.

#### OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ I WNIOSKI

W eksperymencie spowodowano zespół dolnej przeszkody (8), jednak nie odpowiadał on w pełni warunkom uwięźniętego kamienia w moczowodzie (4), ponieważ podwiązano również naczynia krwionośne i limfatyczne oraz mięśnie moczowodu, co wywołało podrażnienie zakończeń nerwowych czuciowych i ruchowych. Był to więc całkowity blok moczowodu, który z kolei wyzwolił niewydolność nerki. Nie bez wpływu na stan cytoenzymatyczny okazała się narkoza, a także zabieg operacyjny. Czynnikiem patogennym był zastój moczu, a ponadto ogólna i miejscowa reaktywność organizmu szczura na zadane urazy (7).

Moczowód podwiązano zaraz ponad przejściem w pęcherz, ponieważ występują tutaj trzy warstwy mięśniówki i zachowują one samodzielność w stosunku do mięśni pęcherza. Doświadczenie miało charakter ostrej,

dlatego też obserwowano reakcje adaptacyjne i brak wyraźnego prze-rostu mięśniówki moczowodu. Już w pierwszym etapie doświadczenia — zastój moczu pod wpływem ucisku — wystąpiło zróżnicowanie morfo-logiczne nabłonka przejściowego. Zmiany te dotyczyły przede wszystkim komórek powierzchniowych. Można przypuszczać, że komórki baldaszko-wate, spłaszczając się, zamknęły szczelniej przestrzenie międzykomórko-we, chroniąc przed drażniącym działaniem moczu pozostałe komórki.

W miarę upływu czasu trwania doświadczenia postępowala destrukcja glikokaliksu, zbudowanego z substancji śluzowych. Objawiało się to ob-niżeniem reakcji PAS, świadczącym w jakimś stopniu o zmianie poziomu glikogenu w komórkach baldaszkowatych. Można to tłumaczyć zaburze-niem utleniania śródkomórkowego, w wyniku którego zużywany jest zapas węglowodanów. Obserwowano również spadek odczynów na RNA. Taka równoległość przemian świadczyć może zarówno o obniżeniu me-tabolizmu w znaczeniu procesów białkotwórczych, jak i o ujemnym bi-lansie energetycznym komórek. Potwierdzeniem takiej interpretacji otrzymanych wyników były odczyny na FK, które narastały, szczególnie w drugiej fazie doświadczenia, tj. w grupach IV i V. Pojawienie się bo-wiem odczynów dyfuzyjnych na FK wskazuje na uszkodzenie procesów życiowych komórek. Spostrzeżenia nasze potwierdzają tezę, że glikoka-lik jest produkowany przez komórki baldaszkowate (5, 6), ale, jak nam się wydaje, przy sprawnym metabolizmie pozostałych komórek nabłonka przejściowego. Sądzymy, że glikokaliks chroni ścianę moczowodu przed destrukcyjnym działaniem moczu (1, 7).

Na podstawie otrzymanych wyników cyto- i histochemicznych można wnioskować, że były one spowodowane z jednej strony zastoinowym moczem, który przy braku glikokaliksu stał się czynnikiem patogennym, a z drugiej — niedostatecznym odżywianiem się komórek nabłonka z po-wodu ucisku układu naczyniowego. Stan ten prowadził, poprzez obrzęk nabłonka, do jego degeneracji, aż do złuszczenia się martwych elementów nabłonka włącznie. Oczywiście, otrzymane obrazy morfochemiczne są wy-razem akcji wyrównawczej całego organizmu zwierząt, choć nie wyklucza się też stresu metabolicznego.

#### PIŚMIENNICTWO

1. Borowski J.: Etiologia, diagnostyka bakteriologiczno-serologiczna i epide-miologiczna zakażeń układu moczowego. [w:] Sympozjum chemioterapii. PTL, Warszawa 1970.
2. Kuśmierski S.: Badania nad doświadczalnym wodonerczem u królików. Pol. Przegl. Chir. **40** (10a), 1176, 1968.
3. Kuśmierski S. i wsp.: Badania morfologiczne moczowodów po zmiążdże-niu w doświadczeniach na królikach. Pol. Przegl. Chir. **41** (8a), 1124, 1969.



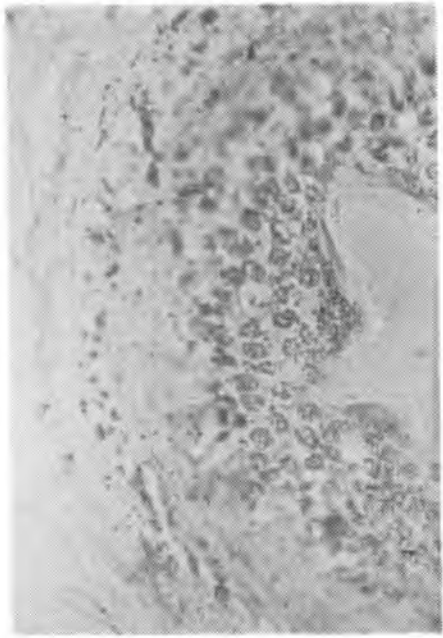
Ryc. 1



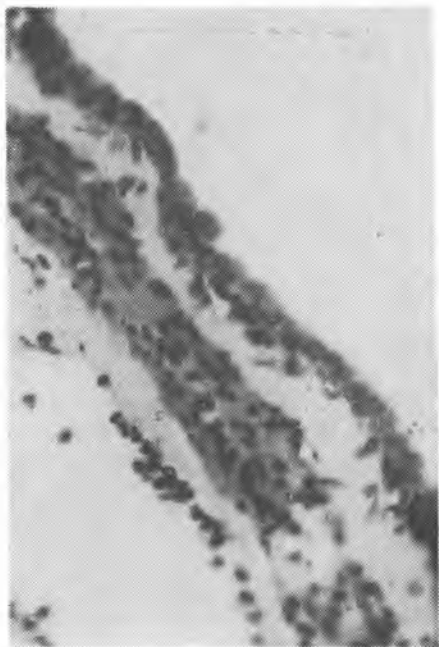
Ryc. 2



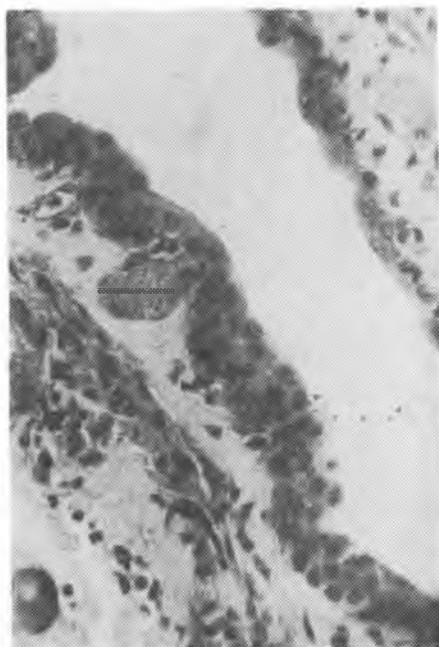
Ryc. 3



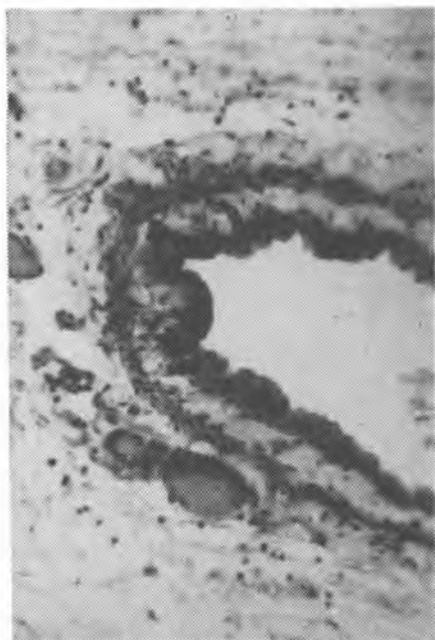
Ryc. 4



Ryc. 5



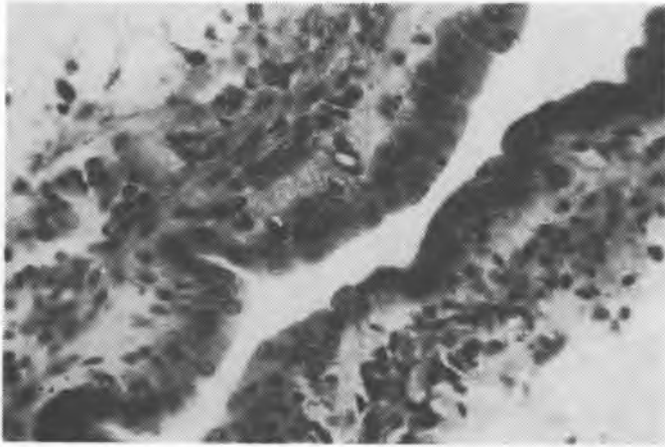
Ryc. 6



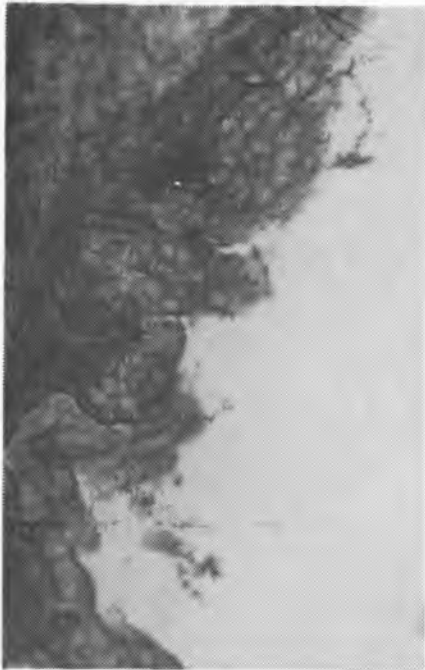
Ryc. 7



Ryc. 8



Ryc. 9



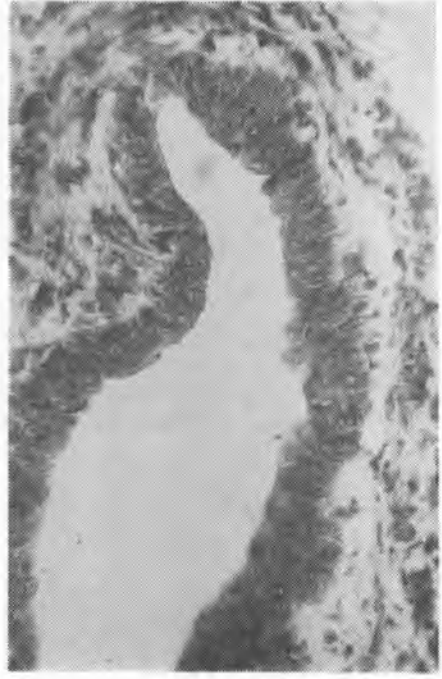
Ryc. 10



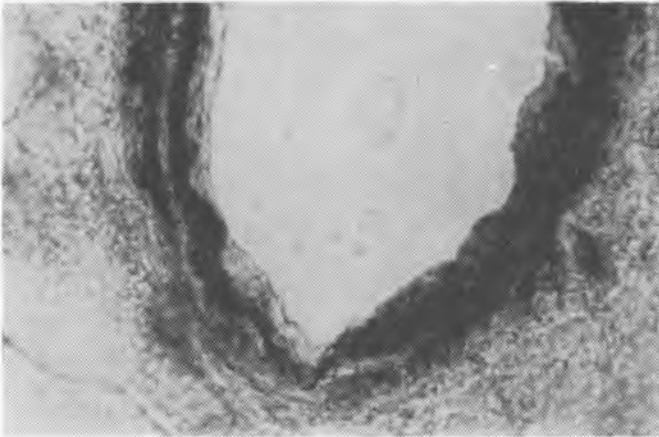
Ryc. 11



Ryc. 12



Ryc. 13



Ryc. 14



4. Lenko J. i wsp.: Kliniczna ocena przyczyn wodonercza. Biul. Wojsk. AM, 13 (4), 24, 1970.
5. Monis B., Dorman H.: Some Histochemical Observations on Transitional Epithelium of Man. The J. of Histochem. and Cytochem. 15, 475, 1967.
6. Monis B., Zambrano D.: Transitional Epithelium of Urinary Tract in Normal and Dehydrated Rats. Zeitschrift für Zellforschung 85, 165, 1968.
7. Staszyc J., Jach E.: Badania cytochemiczne ściany moczowodu świnek morskich przy wzmożonej diurezie. Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska, Lublin, Sectio D 36, 93, 1981.
8. Zwierzyński T. i wsp.: Niewydolność nerek a zespół dolnej przeszkody. [w:] Pamiętnik XIII Zjazdu Nauk. Pol. Tow. Urolog., Lublin 1972.

Otrzymano 4 I 1982.

#### OBJAŚNIENIA RYCIN

Ryc. 1. Grupa kontrolna. Moczowód. Przekrój poprzeczny. Barwienie HE. Pow. 75X.

Ryc. 2. Grupa kontrolna. Moczowód. Przekrój poprzeczny. Barwienie wg Massona. Pow. 150X.

Ryc. 3. Grupa kontrolna. Moczowód. Przekrój podłużny. Reakcja PAS. Pow. 150X.

Ryc. 4. Grupa kontrolna. Moczowód. Przekrój poprzeczny. Reakcja na FK metodą Gomoriego. Pow. 150X.

Ryc. 5. Grupa II doświadczalna. Moczowód. Przekrój podłużny. Barwienie HE. Pow. 400X.

Ryc. 6. Grupa III doświadczalna. Moczowód. Przekrój poprzeczny. Barwienie HE. Pow. 400X.

Ryc. 7. Grupa I doświadczalna. Moczowód. Przekrój poprzeczny. Barwienie HE. Pow. 150X.

Ryc. 8. Grupa I doświadczalna. Moczowód. Przekrój poprzeczny. Barwienie wg Massona. Pow. 400X.

Ryc. 9. Grupa IV doświadczalna. Moczowód. Przekrój poprzeczny. Barwienie HE. Pow. 400X.

Ryc. 10. Grupa III doświadczalna. Moczowód. Przekrój poprzeczny. Reakcja PAS. Pow. 400X.

Ryc. 11. Grupa V doświadczalna. Moczowód. Przekrój poprzeczny. Barwienie HE. Pow. 150X.

Ryc. 12. Grupa V doświadczalna. Moczowód. Przekrój poprzeczny. Reakcja PAS. Pow. 150X.

Ryc. 13. Grupa V doświadczalna. Moczowód. Przekrój poprzeczny. Reakcja wg Bracheta. Pow. 150X.

Ryc. 14. Grupa III doświadczalna. Moczowód. Przekrój poprzeczny. Reakcja na FK metodą Gomoriego. Pow. 150X.

#### РЕЗЮМЕ

Исследовалось поведение клеток переходного эпителия мочеточника после его односторонней перевязки, с разными промежутками времени от момента операции. У животных экспериментальных групп обнаружено расширение про-

света мочеточника, сужение пластов его стeны, изменения патоморфологических клеток эпителия, а именно: водяночные изменения цитоплазмы, разная стадия дегенерации ядер, деструкция гликокаликса эпителия. Сопутствовало этому снижение реакции Брашета, прирост активности реакции на кислую фосфатазу, которая имеет диффузионный характер и снижение или отсутствие реакции PAS на полисахариды в клетках переходного эпителия.

#### SUMMARY

The behaviour of the ureter transitional epithelium cells was examined, at different times, following unilateral ligation of the ureters. The observations of the experimental animals showed a dilatation of the lumen of the ureter, flattening of the ureter wall layers, pathomorphological changes in the epithelium cells, i.e. vacuoles in the cytoplasm, various degeneration stages of the nuclei and destruction of the epithelium glicocalix. The observations also showed decreased Brachet reaction, increased response to acid phosphatase of diffusion character, a decreased PAS reaction, or its absence, to polysaccharides in the transitional epithelium cells.

#### EXPLANATION TO FIGURES

Fig. 1. Control group. The ureter. Cross section. Hematoxylin and eosin. Magn. 75X.

Fig. 2. Control group. The ureter. Cross section. Masson's staining. Magn. 150X.

Fig. 3. Control group. The ureter. Cross section. Longitudinal section. PAS positive reaction. Magn. 150X.

Fig. 4. Control group. The ureter. Cross section. Acid phosphatase activity. Gomori method. Magn. 150X.

Fig. 5. Experimental group II. The ureter. Longitudinal section. Hematoxylin and eosin staining. Magn. 400X.

Fig. 6. Experimental group III. The ureter. Cross section. Hematoxylin and eosin. Magn. 400X.

Fig. 7. Experimental group I. The ureter. Cross section. Hematoxylin and eosin staining. Magn. 150X.

Fig. 8. Experimental group I. The ureter. Cross section. Masson's staining. Magn. 400X.

Fig. 9. Experimental group IV. The ureter. Cross section. Hematoxylin and eosin staining. Magn. 400X.

Fig. 10. Experimental group III. The ureter. Cross section. PAS reaction. Magn. 400X.

Fig. 11. Experimental group V. The ureter. Cross section. Hematoxylin and eosin staining. Magn. 150X.

Fig. 12. Experimental group V. The ureter. Cross section. PAS reaction. Magn. 150X.

Fig. 13. Experimental group V. The ureter. Cross section. Brachet's method. Magn. 150X.

Fig. 14. Experimental group III. The ureter. Cross section. Gomori method. Magn. 150X.