

Samodzielna Pracownia Mikroskopii Elektronowej. Instytut Biologiczno-Morfologiczny.
Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: doc. dr hab. Maciej Latański

Daniela OBUCHOWSKA

Badania mikroskopowo-elektronowe nad wpływem etanolu na nabłonek kanalików nerki szczura

Электронные исследования эпителия проксимальных канальцев почки крысы
под влиянием этанола

Electron—Microscopic Studies on the Influence of Ethanol on the Epithelium
Proximal Tubules of a Rat Kidney

Zagadnienie spalania etanolu poza wątrobą nie jest jeszcze w pełni wyjaśnione. Uważa się, że następuje ono w mięśniach i nerkach (15, 27) przy udziale tych samych enzymów co w wątrobie, to jest dehydrogenazy alkoholowej i katalazy (15). Reakcje cytochemiczne z użyciem DAB (3-3' — diamino-benzidyn-tetrahydrochlorid) uwydatniają aktywność katalazy w strukturach komórkowych zwanych mikrociałami lub peroksyosomami (1, 6, 7, 22, 23). Wykonanie tego odczynu pozwala więc na przeanalizowanie udziału wymienionych organelli w przemianach etanolu, co dotychczas nie jest znane.

MATERIAŁ I METODYKA BADAŃ

Badania przeprowadzono na 31 szczurach białych (*Rattus rattus* L. *albino*), samcach, o ciężarze początkowym 160—200 g. Zwierzęta podzielono na 4 grupy: kontrolną (4 sztuki), doświadczalną I (9 sztuk), doświadczalną II (9 sztuk) i doświadczalną III (9 sztuk). Szczurom doświadczalnym podawano sondą dożołądkową 40% alkohol etylowy w dawce 3 g/kg ciężaru ciała. Zwierzęta z grupy doświadczalnej I pojo no przez 1 miesiąc, z grupy II przez 2 miesiące, a z grupy III przez 3 miesiące.

Badania mikroskopowo-elektronowe obejmowały obserwacje morfologiczne oraz reakcje cytochemiczne na fosfatazę kwaśną i katalazę w komórkach nabłonka kanalików krętych I rzędu nerki. Wycinki nerki (zawsze lewej) pobierano w narkozie eterowej po 24 godz. od podania ostatniej dawki etanolu. Materiał do badań morfologicznych przygotowywano w sposób rutynowy. Wycinki tej samej nerki do obserwacji cytochemicznych utrwalono w 2,5% aldehydzie glutarowym, a po inkubacji dotrwalano w 1% OsO₄. Fosfatazę kwaśną wykrywano metodą Gomoriego (9),

natomiast katalazę metodą Novikoffa i Goldfishera (23). Ultracienkie skrawki fotografowano w mikroskopie elektronowym Tesla BS 613 (CSSR). Z badań dodatkowych wykonano oznaczenie białka w moczu zwierząt z każdej grupy na 2—3 dni przed pobraniem materiału do obserwacji w mikroskopie elektronowym.

OBSERWACJE WŁASNE

Grupa kontrolna (ryc. 1—5)

Kanaliki kręte I rzędu nerki szczura wyścielone były jednowarstwowym nabłonkiem walcowatym. Komórki leżały na błonie podstawowej posiadającej homogenną strukturę (ryc. 1). Błona komórkowa, czyli plazmolemma, w części bazalnej komórek tworzyła różnej wysokości fałdy (ryc. 1). W częściach szczytowych błony sąsiadujących ze sobą komórek stykały się za pośrednictwem listewek granicznych. Na wolnej powierzchni zwróconej w stronę światła kanalika obserwowano liczne mikrokosmki. Plazmolemma występująca między mikrokosmkami wpuklała się w głąb cytoplazmy tworząc zamknięte, zwykle kolbkowato zakończone tubularne struktury. Obok nich dostrzegano liczne małe pęcherzyki i większe od nich wakuole apikalne. Mitochondria znacznie wydłużone, rzadziej owalne występowały licznie w całej cytoplazmie (ryc. 1). Niektóre z tych organelli wykazywały nieregularne kształty.

Retikulum endoplazmatyczne reprezentowane było przez błony ziarniste, nieliczne, rozmieszczone luźno w całej cytoplazmie (ryc. 1), oraz przez błony gładkie. Te ostatnie widoczne były w postaci podłużnych kanałów lub pęcherzyków. Obserwowano je na obwodzie komórek, szczególnie w części szczytowej, oraz w pobliżu ciał gęstych na terenie całej cytoplazmy (ryc. 1). Układ Golgiego składał się ze spłaszczonych cystern oraz rozmaitej wielkości pęcherzyków. W tej samej komórce spostrzegano różną lokalizację tych struktur, występowały one zarówno przy podstawie (ryc. 1), jak też u szczytu komórek lub w okolicach jądra komórkowego.

Na terenie całej cytoplazmy występowały licznie różnorodne ciała gęste. Jedne z nich określano jako cytosomy. W zależności od strefy komórek, w jakiej je obserwowano, posiadały różny wygląd. Cytosomy leżące w części szczytowej w pobliżu wakuoli apikalnych były do nich podobne, lecz zawierały wewnątrz więcej elektronowo gęstego materiału. Badania cytochemiczne wykazały w cytosomach obecność produktu reakcji na fosfatazę kwaśną (ryc. 5). Wakuole apikalne były pozbawione produktu reakcji. Cytosomy leżące w okolicach jądra komórkowego i bliżej podstawy komórek wykazywały homogenną zawartość o umiarkowanej gęstości elektronowej. Większość z nich zawierała wewnątrz elementy błoniaste lub włókniste (ryc. 1). Spotykano i takie cytosomy, które były

wypełnione koncentrycznie układającymi się formami błoniastymi przypominającymi mielinę. Występowały one bardzo rzadko, głównie w części szczytowej i u podstawy komórek. Wszystkie cytosomy niezależnie od umiejscowienia otoczone były pojedynczą błoną i wykazywały produkt reakcji na fosfatazę kwaśną (ryc. 5).

Drugą grupę ciał gęstych stanowiły organelle otoczone również pojedynczą błoną, sporadycznie podwójną, wypełnione homogenną substancją zawierające wewnątrz łatwo rozpoznawalne struktury cytoplazmatyczne takie jak mitochondria (ryc. 1). Określano je jako cytosegresomy. Oprócz cytosomów i cytosegresomów zauważono w opisywanych komórkach jeszcze jeden rodzaj ciał gęstych. Charakteryzowała je pojedyncza, lekko pofałdowana błona oraz homogenna substancja wewnętrzna. Identyfikowano je jako mikrociała czyli peroksosomy. Obserwowano mikrociała okrągłe lub owalne (ryc. 1), różnej wielkości, lecz zwykle mniejsze od cytosomów. W sąsiedztwie omawianych organelli zawsze występowały błony retikulum endoplazmatycznego (ryc. 1). Obok łatwych do zidentyfikowania mikrociał spostrzegano i takie, które na podstawie obserwacji morfologicznych trudno było jednoznacznie zaliczyć do tego typu organelli, z uwagi na podobieństwo do mitochondriów i niektórych cytosomów. Wykonanie reakcji na katalazę pozwoliło w takich przypadkach na bardziej wnikliwą analizę charakteru i struktury opisywanych organelli. Na obwodzie peroksosomów dostrzegano pierścieniowate struktury (ryc. 2). W części tych organelli stwierdzono obecność wypustek (ryc. 3), inne miały okrągłe kształty (ryc. 4). Ciała wielopęcherzykowe występowały w komórkach kanalików krętych I rzędu nielicznie.

Owalne jądra komórkowe położone zwykle centralnie lub mimośrodowo, otaczała błona złożona z dwóch blaszek. Chromatyna tworzyła skupienia przylegające do błony jądrowej. Podobne skupienia chromatyny obserwowano w pobliżu jąderek. Poza tym była rozproszona na terenie całej karioplazmy w postaci ziaren interchromatyny. Ziarna perichromatyny, elektronowo gęste, otoczone jasnym „halo” (12, 30), znacznie większe od ziaren interchromatyny znajdowano w sąsiedztwie skupień chromatyny w obrębie karioplazmy. Na terenie jądra obserwowano zwykle jedno jąderko.

Cytoplazma podstawowa komórek miała strukturę drobnoziarnistą o umiarkowanej gęstości elektronowej. Występowały w niej skupienia rybosomów w postaci polirybosomów (ryc. 1). Gęstość elektronowa cytoplazmy podstawowej wchodzącej w skład mikrokosmków była niższa niż w pozostałej części komórek.

Poziom białka w moczu zwierząt kontrolnych wynosił średnio 0,12⁰/₀₀. Przyrost ciężaru ciała zwierząt w porównaniu z ciężarem przed doświadczeniem wynosił przeciętnie 18%.

Grupa doświadczalna I (ryc. 6—7)

Komórki nabłonka kanalików krętych I rzędu nie zmieniły kształtu w porównaniu z kontrolnymi. W błonie podstawowej zmian nie obserwowano (ryc. 7). Plazmolemma u podstawy komórek tworzyła różnej wysokości fałdy, a na ścianach bocznych posiadała przebieg prosty, podobnie jak w grupie kontrolnej (ryc. 6). W pobliżu światła kanalika zauważono typowe listewki graniczne (ryc. 6). Wolną powierzchnię komórek pokrywały niezmienione mikrokosmki. Pod nimi występowały charakterystyczne dla tej strefy tubularne struktury, wakuole apikalne i pęcherzyki apikalne. Wszystkie te struktury nie wykazywały uchwytnych różnic w porównaniu z komórkami grupy opisanej poprzednio. Większość mitochondriów nie uległa zmianie. Niektóre miały nietypowe kształty (ryc. 6), a część tych organelli posiadała obrzmienie połączone z przejaśnieniami macierzy (ryc. 7).

Błony ziarniste, błony gładkie, układy Golgiego, ciała wielopęcherzykowe nie wykazywały zmian w porównaniu z kontrolą. W budowie i liczbie cytosomów i cytosegresomów zmian również nie dostrzeżono (ryc. 6, 7). Podobnie nie zauważono uchwytnych różnic w strukturze i liczbie mikrociał (ryc. 7). Jądra i jąderka pozostawały niezmienione. Cytoplazma podstawowa zachowywała umiarkowaną gęstość elektronową, ale liczba wolno leżących polirybosomów była zwiększona w porównaniu z kontrolą (ryc. 7).

Przeciętna zawartość białka w moczu szczurów po miesiącu podawania etanolu wynosiła 0,33‰, natomiast przyrost ciężaru ciała po tym okresie wynosił średnio 53% w porównaniu z ciężarem zwierząt przed doświadczeniem.

Grupa doświadczalna II (ryc. 8—14)

Kształt komórek oraz budowa i grubość błony podstawowej nie wykazywały zmian w porównaniu z obrazami z grup kontrolnej i doświadczalnej I. Błona komórkowa u podstawy tworzyła głębsze niż poprzednio opisanych grupach fałdy (ryc. 9). W wyglądzie mikrokosmków, struktur apikalnych (pęcherzyki i wakuole apikalne) oraz listewek granicznych różnic nie dostrzegano w porównaniu z wcześniej omówionymi grupami (ryc. 11). Część mitochondriów uległa znacznej deformacji przybierając faliste obrysy (ryc. 8). W niektórych obserwowano poszerzenie na pewnym odcinku przestrzeni między zewnętrzną i wewnętrzną błoną (ryc. 9). W innych, podobnie jak w grupie poprzedniej, występowały przejaśnienia macierzy (ryc. 11, 12), oraz obrzmienie substancji macierzystej (ryc. 11, 12). Liczba błon ziarnistych była niezmieniona (ryc. 12). Pęcherzyki błon gładkich występowały liczniej niż w kontroli i grupie doświadczalnej I, lecz tylko w pobliżu układów Golgiego (ryc. 10), w pozostałych strefach komórek liczba ich była zbliżona do poprzednich grup. Niektóre cysterny

Golgiego wykazywały poszerzenie (ryc. 10). Cytosomy zjawily się w większych ilościach niż w kontroli i grupie doświadczalnej I (ryc. 14), natomiast cytosegresomy widoczne były w podobnych ilościach jak u zwierząt kontrolnych i grupy doświadczalnej I.

W obserwacjach morfologicznych uwagę zwracały małe, elektronowo gęste ciała, zlokalizowane głównie w okolicy szczytowej i okołojądrowej, często w pobliżu aparatu Golgiego lub błon retikulum endoplazmatycznego (ryc. 10, 12). Część z nich zwłaszcza te, które występowały w sąsiedztwie układów Golgiego (ryc. 10) wyglądem swoim odpowiadały pierwotnym lizosomom. Natomiast pozostałe, spotykane między błonami siatki śródplazmatycznej przypominały mikrociała, lecz różniły się od nich wielkością (były mniejsze) i bardziej intensywną gęstością elektronową. Na podstawie wykazanej aktywności katalazy (ryc. 13) można uważać, że były to peroksosomy. Mikrociała wielkością przypominające analogiczne organelle w poprzednich grupach nie wykazywały zmian. Jednakże wykonanie reakcji cytochemicznych pozwoliło na stwierdzenie zwiększenia liczby peroksosomów w porównaniu do dwu wcześniej opisanych grup.

W liczbie i wyglądzie ciał wielopęcherzykowych różnic nie dostrzegano (ryc. 11). W jądrze komórkowym i jąderku zmian także nie obserwowano. Cytoplazma podstawowa posiadała umiarkowaną gęstość elektronową, liczba polirybosomów była mniejsza niż w grupie doświadczalnej I, a podobna do kontroli (ryc. 11).

Po dwu miesiącach podawania szczerum etanolu poziom białka w moczu wynosił średnio 0,22‰, a przyrost ciężaru — 58%.

Grupa doświadczalna III (ryc. 15—20)

Komórki zachowały walcowaty kształt. Błona podstawowa była niezmienniona. Mikrokosmki, listewki graniczne, struktury tubularne, pęcherzyki i wakuole apikalne w większości komórek zmian nie wykazywały. Większość mitochondriów uległa w tej grupie zmianie. Niektóre były silnie spęczniałe i wykazywały przejaśnienia w macierzy, w innych oprócz przejaśnień obserwowano również redukcję grzebieni przy zachowaniu podwójnej błony (ryc. 16). Sporadycznie występowały mitochondria o sferycznych kształtach (ryc. 17). W tej grupie spostrzegano szereg struktur trudnych do zidentyfikowania. Obserwowano struktury przypominające mitochondria, otoczone podwójną błoną, bez grzebieni, lecz posiadające nieregularne kształty (ryc. 17). W liczbie błon ziarnistych zmian nie dostrzegano, natomiast niektóre kanały tych błon uległy nieznacznemu poszerzeniu. Pęcherzyki błon gładkich zauważono w nieco większej liczbie niż w kontroli i dwóch poprzednich grupach doświadczalnych. W układzie Golgiego obserwowano poszerzenie niektórych cystern.

Cytosomy występujące tutaj najliczniej z dotąd omawianych grup, wykazywały duże zróżnicowanie pod względem wielkości, gęstości elek-

tronowej oraz rodzaju i liczby znajdującego się w ich wnętrzu materiału (ryc. 16). W niektórych komórkach obserwowano cytosomy z porozrywanymi błonami (ryc. 19). W grupie tej występowały i takie organelle, które otaczała podwójna błona, często pofałdowana, o wnętrzu wypełnionym dużą liczbą podobnych błon oraz materiałem elektronowo gęstym, tworzącym nieliczne skupienia. Na skrawkach z wykonanym odczynem struktury o podobnym wyglądzie wykazywały produkt reakcji na fosfatazę kwaśną (ryc. 15). Można by więc przypuszczać, że opisane organelle stanowią rodzaj cytosomów. Te mikrociała, które można było zidentyfikować w obserwacjach morfologicznych, występowały w większej liczbie w stosunku zarówno do kontroli, jak i poprzednich grup doświadczalnych. Peroksysomy oceniane w preparatach cytochemicznych wykazywały często nieregularne kształty (ryc. 20). Przypominały one nieco niezidentyfikowane struktury, o których była wyżej mowa, pokazane na ryc. 18. Ciała wielopęcherzykowe zmian nie wykazywały. W jądrze i jąderku jak również w liczbie polirybosomów nie dostrzegano różnic w porównaniu z poprzednio opisanymi grupami (ryc. 16, 18).

Przeciętna zawartość białka w moczu w tej grupie wynosiła 0,18^{0/00}, a przyrost ciężaru ciała zwierząt — 61% w porównaniu do ciężaru zwierząt przed doświadczeniem.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Obserwacje ultrastruktury komórek nabłonka kanalików krętych I rzędu nerki szczura wskazują na wysoki stopień organizacji ich cytoplazmy. Modyfikacje części szczytowych komórek w postaci mikrokosmków, wakuoli i pęcherzyków apikalnych wydajnie zwiększają powierzchnię absorpcyjną zewnętrznej błony komórkowej. Groniowski i wsp. (11) stwierdzili obecność otoczki mukopolisacharydowej we wspomnianych wyżej strukturach. Według tych autorów kwasy sialowe będące zasadniczym składnikiem otoczki umożliwiają absorbcję zwrotną białek i niskocząsteczkowych związków. Zreabsorbowane białko pojawia się najpierw w wakuolach apikalnych, a następnie w cytosomach, czego dowodzą badania Ericssona (3, 4), Grahama (10), Trumpa (32) i Kurtza (19). W cytosomach odbywa się rozkład pochłoniętych substancji przy udziale enzymów hydrolitycznych między innymi fosfatazy kwaśnej. Podczas tego procesu cytosomy ulegają wyraźnym zmianom morfologicznym. Obecność fosfatazy kwaśnej w tych organellach nie podlega dziś dyskusji. Liczne badania histochemiczne i cytochemiczne Ericssona (2, 3, 4) oraz innych autorów (1, 10), jak również nasze przemawiają za tym, że enzym ten zawsze występuje w cytosomach nerkowych. Z tego powodu są one uważane za funkcjonalny odpowiednik lizosomów opisywanych w komórkach różnych narządów (2, 5).

Obok wyżej opisanego zjawiska pinocytozy (podobnie jak w przypadku fagocytozy) w warunkach fizjologicznych w komórkach kanalików krętych I rzędu nerki zachodzi proces autolizy (autofagii). Polega on na trawieniu przez komórkę części własnej cytoplazmy. Zdaniem Ericssona (5) i Maunsbacha (21) autoliza wiąże się również z organellami charakteryzującymi się wysoką aktywnością fosfatazy kwaśnej. Autorzy ci utrzymują, że droga fagocytozy (lub pinocytozy) i autolizy jest częściowo wspólna, lecz obraz zmian morfologicznych różny. Autofagii zawsze towarzyszy pojawianie się cytosegresomów, które także wykazują obecność fosfatazy kwaśnej (5), co upoważnia do traktowania tych organelli również jako funkcjonalnych odpowiedników lizosomów.

W warunkach patologicznych ma miejsce nasilenie procesów autolizy i fagocytozy w komórkach kanalików proksymalnych (5). Przy wzmożeniu obu tych procesów występuje zwiększenie liczby cytosomów (5). Jednak nasilenie procesów autolitycznych wiąże się z równoczesnym wzrostem ilościowym cytosegresomów czego nie obserwuje się podczas fagocytozy czy pinocytozy. Ericsson (5) podaje, że nasilenie autolizy w komórkach kanalików proksymalnych nerki może być spowodowane środkami toksycznymi (czterochlorek węgla), niektórymi antybiotykami (bacitracyna) jak też niedoborem witamin (witamina E). Powstawanie cytosegresomów podczas autolizy według Ericssona (5) stanowi mechanizm, za pomocą którego komórka trawiąc własną cytoplazmę odżywia się w sposób kontrolowany, nie prowadzący do nieodwracalnego jej zniszczenia. Jest on swoistym mechanizmem przeżywania komórki w okresie głodowym i wiąże się ściśle z przemianą energii komórkowej (5).

W naszych badaniach dotyczących komórek nabłonka kanalików krętych I rzędu nerki szczura w grupie I stwierdzono niewielkie zmiany w porównaniu z kontrolą. Ograniczyły się one do zwiększenia liczby wolno leżących polirybosomów oraz zmian w kształcie i budowie wewnętrznej niektórych mitochondriów. W grupie II oprócz obrzmienia i zmian w kształcie mitochondriów obserwowano poszerzenie cystern Golgiego, większe pofałdowanie plazmolemy w częściach bazalnych komórek oraz zwiększenie liczby cytosomów i cytosegresomów. Największe różnice w ultrastrukturze występowały po trzech miesiącach podawania szczurom etanolu, to jest w grupie III. Dotyczyły one: deformacji i uszkodzenia struktury wewnętrznej mitochondriów, zwiększenia liczby cytosomów, szczególnie w części szczytowej komórek oraz naruszenia ciągłości błony cytosomalnej, wzrostu liczby cytosegresomów, oraz zwiększenia liczby i zmian w kształcie peroksosomów, a także przerostu elementów gładkiego retikulum endoplazmatycznego.

Zmiany w strukturze mitochondriów polegające na obrzmieniu czy też przejaśnieniach macierzy nie są specyficznymi dla etanolu (25). Zda-

niem Rubina i wsp. (25), jak też innych badaczy, tego typu zmiany powstają pod wpływem szeregu składników dietetycznych i środków toksycznych. Trump i wsp. (33) tłumaczą takie zmiany zaburzeniami procesów natury osmotycznej. Z uwagi na to, że etanol podnosi poziom jonów Na przy jednoczesnym obniżaniu zawartości jonów K w komórkach zarówno wątroby, jak i kanalików nerkowych (29) jest możliwe, że zaburzenie struktury wewnętrznej mitochondriów, o których była wyżej mowa, mogą być pośrednio wywołane działaniem etanolu. Rubin i wsp. (26) podają, że izolowane mitochondria z wątroby szczurów pojonnych alkoholem etylowym wykazują obniżenie procesów utleniania. Horn i wsp. (14) wykazali, że po dwu miesiącach podawania szczurom etanolu następował u nich spadek poziomu dehydrogenazy alkoholowej w wątrobie oraz miał miejsce spadek szybkości spalania. Tak więc obrzmienie i zmiany w gęstości elektronowej macierzy mitochondriów mogą ewentualnie wpływać na osłabienie procesów utleniania, co jest spowodowane spadkiem zawartości dehydrogenazy alkoholowej. Drugi typ zmian mitochondriów stwierdzany w naszym doświadczeniu dotyczył kształtu tych organelli. Mitochondria sferyczne lub o falistych kształtach posiadały nienaruszoną strukturę wewnętrzną. Występowanie mitochondriów tego typu obok mitochondriów opisanych wcześniej, można przypuszczalnie tłumaczyć przystosowaniem się komórek do utleniania alkoholu, co sugerują Rubin i wsp. (26). Mitochondria hepatocytów ulegają znacznie wcześniej i w większych ilościach zmianom niż mitochondria komórek kanalików nerkowych (13, 24, 25, 26), przy czym nasilenie zmian w tych organellach jest postępujące zarówno w wątrobie, jak w nerce. Prawdopodobnie dzieje się tak dlatego, że wątroba jest głównym narządem, w którym odbywa się przemiana etanolu. Jacobsen (15) podaje, że 5/6 całej liczby tego związku ulega spalaniu właśnie w tym narządzie, a tylko 1/6 utlenia się poza wątrobą.

Stwierdzone w naszych badaniach: progresywny wzrost liczby cytosomów u zwierząt grup II i III oraz wzrost liczby cytosegresomów w grupie III pokrywają się z obserwacjami Rubina i wsp. (25) dotyczącymi hepatocytów. Taki obraz morfologiczny, zdaniem tych autorów, może świadczyć o zaburzeniu metabolizmu tłuszczów. Obserwowana w naszym doświadczeniu niekompletność błon cytosomów zdaje się być uwarunkowana obniżeniem ich stabilności pod wpływem etanolu, jak to sugerują Platt i wsp. (24).

W niektórych komórkach w grupie III zauważono zwiększoną koncentrację cytosomów w strefie okołoszczytowej. Taki obraz może ewentualnie świadczyć o zwiększonej resorbcji ze światła kanalika. Badania laboratoryjne mocz u wykazały najwyższy poziom białka po miesiącu pojenia, po 2 i 3 miesiącach liczba białka zmniejszyła się, lecz nadal pozo-

stawiała większa niż u zwierząt kontrolnych. Na tej podstawie można przypuszczać, że podawanie szczurom alkoholu etylowego prowadzi do zaburzeń funkcji komórek początkowego odcinka nefronu. Niektórzy autorzy stwierdzali natomiast wpływ etanolu na zawartość białek w surowicy krwi. W ó j c i c k i i wsp. (35) podają, że w przewlekłym alkoholizmie występuje spadek poziomu albumin w surowicy krwi przy jednoczesnym wzroście a_2 — globulin i wzroście aktywności fosfatazy alkalicznej.

W grupach II, I, III zaobserwowano zwiększenie liczby peroksysomów, a po 3 miesiącach ponadto miały miejsce: zwiększenie ich wielkości i zmiany kształtów. Podobne zjawisko obserwowali w wątrobie alkoholiczków R u b i n i wsp. (29). Autorzy ci nie tłumaczą tych zmian. K ä h ö n e n i wsp. (16) podając szczurom równocześnie etanol i clofibrat stwierdzali szybsze znikanie alkoholu z krwi w porównaniu z tymi zwierzętami, którym clofibratu nie podawano. Clofibrat jest znanym lekiem obniżającym poziom trójglicerydów i cholesterolu w organizmie (16) oraz powodującym wzrost liczby peroksysomów w wątrobie (20, 31). Gromadzone w wątrobie pod wpływem etanolu lipidy są w głównej mierze trójglicerydami (28). Powstają one wskutek estryfikacji kwasów tłuszczowych. Zjawisko to może zachodzić bez udziału mitochondriów, co może świadczyć o zaangażowaniu frakcji mikrosomalnej w estryfikację kwasów tłuszczowych (28). Szereg autorów stwierdzało wpływ etanolu na wzrost liczby błon gładkiego retikulum będącego częścią tej frakcji (8, 25, 26). Nasze obserwacje potwierdzają tego rodzaju zmiany w komórkach kanalików krętych I rzędu nerki. Przerost błon gładkich autorzy wiążą z indukcją enzymów mikrosomalnych biorących udział w utlenianiu etanolu (17). Na podstawie obrazów morfologicznych i cytochemicznych komórek nerki można by przypuszczać, że wzmożona synteza enzymów mikrosomalnych powoduje wzrost liczby peroksysomów, które pośrednio poprzez udział w metabolizmie lipidów mogą uczestniczyć w spalaniu etanolu.

Różnice w ultrastrukturze komórek nabłonka kanalików krętych I rzędu nerki szczura w grupach I i II w porównaniu z kontrolą są nieznaczne, pokrywają się jednak ze zmianami występującymi pod wpływem etanolu w wątrobie. Zwiększenie liczby polirybosomów w grupie I może wpływać na wzrost syntezy lipoprotein, jak to sugerują R u b i n i wsp. (25), i może stanowić mechanizm adaptacyjny. Poszerzenie cystern Golgiego w połączeniu ze zwiększeniem liczby cytosomów w naszym doświadczeniu można przypuszczalnie tłumaczyć zaangażowaniem układu Golgiego w tworzenie pierwotnych lizosomów tym bardziej, że badania cytochemiczne niektórych autorów wskazują na obecność fosfatazy kwaśnej będącej markerem lizosomów w niektórych cysternach Golgiego (23).

WNIOSKI

1. Podostre zatrucie etanolem powoduje zmiany w ultrastrukturze komórek nabłonka kanalików krętych I rzędu nerki szczurów, które polegają na deformacji i uszkodzeniu struktury wewnętrznej mitochondriów, zwiększeniu liczby i wielkości oraz zmianach kształtu peroksosomów, a także wzroście liczby cytosomów z uszkodzeniem ich otoczki.

2. Zmiany stwierdzone w obrazach morfologicznych i cytochemicznych mogą świadczyć o dużym zaangażowaniu enzymów mitochondrialnych i peroksosomalnych w procesie spalania etanolu.

PIŚMIENICTWO

1. Beard M. E., Novikoff A. B.: *J. Cell. Biol.* **42**, 501—518, 1969.
2. Ericsson J. L. E.: *J. Histochem. Cytochem.* **12**, 8—9, 1964 (abstr.).
3. Ericsson J. L. E.: *Lab. Invest.* **14**, 1—15, 1965.
4. Ericsson J. L. E.: *Lab. Invest.* **14**, 16—39, 1965.
5. Ericsson J. L. E.: *Lysosomes in Biology and Pathology*, Amsterdam — London 1969.
6. Essner E.: *Histochem. Cytochem.* **17**, 454—466, 1969.
7. Fahimi H. D.: *J. Histochem. Cytochem.* **16**, 547—554, 1968.
8. Foust J. R., Rogers L. A.: *J. Pharmacol. Exp. Therap.* **147**, 112—119, 1965.
9. Gomori G.: *J. Histochem. Cytochem.* **2**, 209—215, 1954.
10. Graham R. C., Karnovsky M. J.: *J. Histochem. Cytochem.* **14**, 291—302, 1966.
11. Groniowski J., Biczyskova W., Walski M.: *J. Cell. Biol.* **40**, 585—601, 1969.
12. Grzycki S., Latalski M.: *Cytologia (Japan)* **37**, 555—563, 1972.
13. Hartroft W. S., Porta E. A.: *Gastroenterology* **46**, 304—305, 1964 (abstr.).
14. Horn R. S., Manthei R. W.: *J. Pharmacol. Exp. Therap.* **147**, 385—390, 1965.
15. Jacobsen E.: *Nature* **169**, 645—647, 1952.
16. Kähönen M. T., Ylikahri R. H., Hassinen I.: *Life Sci.* **10**, 661—670, 1971.
17. Khanna J. M., Kalant H., Lin G.: *Biochem. Pharmacol.* **19**, 2493—2499, 1970.
18. Korobowicz E.: Wpływ przewlekłego podawania alkoholu etylowego na mięsień serca u szczurów (praca doktorska).
19. Kurtz S. M., Feldman J. D.: *Lab. Invest.* **11**, 167—176, 1962.
20. Legg J. G., Wood R. L.: *J. Cell. Biol.* **45**, 118—129, 1970.
21. Maunsbach A. B.: *Lysosomes in Biology and Pathology*, Amsterdam — London, 1969.
22. Novikoff A. B., Goldfischer S.: *J. Histochem. Cytochem.* **16**, 507—509, 1968.
23. Novikoff P. M., Novikoff A. B., Quintana N., Hauw J. J.: *J. Cell. Biol.* **50**, 859—871, 1971.
24. Platt D., Schnorr B.: *Arch. Pharmak.* **270**, 343—348, 1971.
25. Rubin E., Lieber C. S.: *Gastroenterology* **52**, 1—13, 1967.
26. Rubin E., Bacchin P., Gang H., Lieber C. S.: *Lab. Invest.* **22**, 569—587, 1970.

27. Rusiecki W., Kubikowski P.: Toksykologia współczesna. PZWL, Warszawa 1969.
28. Scheig R., Isselbacher K. J.: Gastroenterology 46, 304, 1964 (abstr.).
29. Schramm R. W., Schramm H.: Psych. Pol. 1, 343—347, 1967.
30. Shinozuka H., Goldblatt P. J., Farber E.: J. Cell. Biol. 36, 313—328, 1968.
31. Svoboda D. J., Azarnoff D. L.: J. Cell. Biol. 30, 442—450, 1966.
32. Trump B. F.: J. Ultrastruct. Res. 5, 291—310, 1961.
33. Trump B. F., Goldblatt T. J., Stowel R. E.: Lab. Invest. 14, 343—471, 1965.
34. Wójcicki J.: Diss. Pharm. Pharmacol. 19, 1—8, 1967.

Otrzymano 16 I 1974.

OBJAŚNIENIA RYCIN

Ryc. 1. Grupa kontrolna. Komórka kanaliką krętego I rzędu nerki szczura. pow. 35 000×.

Ryc. 2. Grupa kontrolna. Reakcja na katalazę w komórkach nabłonka kanaliką krętego I rzędu nerki szczura. Pow. 35 000×.

Ryc. 3. Grupa kontrolna. Reakcja na katalazę w komórkach nabłonka kanaliką krętego I rzędu nerki szczura. Pow. 35 000×.

Ryc. 4. Grupa kontrolna. Peroksysomy w komórce nabłonka kanaliką krętego I rzędu nerki szczura. Pow. 35 000×.

Ryc. 5. Grupa kontrolna. Reakcja na fosfatazę kwaśną w komórkach nabłonka kanaliką krętego I rzędu nerki szczura. Pow. 36 000×.

Ryc. 6. Grupa doświadczalna I. Komórka nabłonka kanaliką krętego I rzędu nerki szczura. Pow. 35 000×.

Ryc. 7. Grupa doświadczalna I. Komórka nabłonka kanaliką krętego I rzędu nerki szczura. Pow. 35 000×.

Ryc. 8. Grupa doświadczalna II. Komórka nabłonka kanaliką krętego I rzędu nerki szczura. Pow. 35 000×.

Ryc. 9. Grupa doświadczalna II. Komórka nabłonka kanaliką krętego I rzędu nerki szczura. Pow. 35 000×.

Ryc. 10. Grupa doświadczalna II. Komórka nabłonka kanaliką krętego I rzędu nerki szczura. Pow. 35 000×.

Ryc. 11. Grupa doświadczalna II. Komórka nabłonka kanaliką krętego I rzędu nerki szczura. Pow. 35 000×.

Ryc. 12. Grupa doświadczalna II. Komórka nabłonka krętego I rzędu nerki szczura. Pow. 35 000×.

Ryc. 13. Grupa doświadczalna II. Reakcja na katalazę w komórkach nabłonka kanaliką krętego I rzędu nerki szczura. Pow. 35 000×.

Ryc. 14. Grupa doświadczalna II. Reakcja na fosfatazę kwaśną w komórkach nabłonka kanaliką krętego I rzędu nerki szczura. Pow. 35 000×.

Ryc. 15. Grupa doświadczalna III. Reakcja na fosfatazę kwaśną w komórkach nabłonka kanaliką krętego I rzędu nerki szczura. Pow. 35 000×.

Ryc. 16. Grupa doświadczalna III. Komórki nabłonka kanaliką krętego I rzędu nerki szczura. Pow. 38 000×.

Ryc. 17. Grupa doświadczalna III. Komórka nabłonka kanaliką krętego I rzędu nerki szczura. Pow. 38 000×.

Ryc. 18. Grupa doświadczalna III. Komórka nabłonka kanalik krętego I rzędu nerki szczura. Pow. 38 000X.

Ryc. 19. Grupa doświadczalna III. Komórka nabłonka kanalik krętego I rzędu nerki szczura. Pow. 38 000X.

Ryc. 20. Grupa doświadczalna III. Reakcja na katalazę w komórkach nabłonka kanalik krętego I rzędu nerki szczura. Pow. 38 000X.

OBJAŚNIENIE SKRÓTÓW

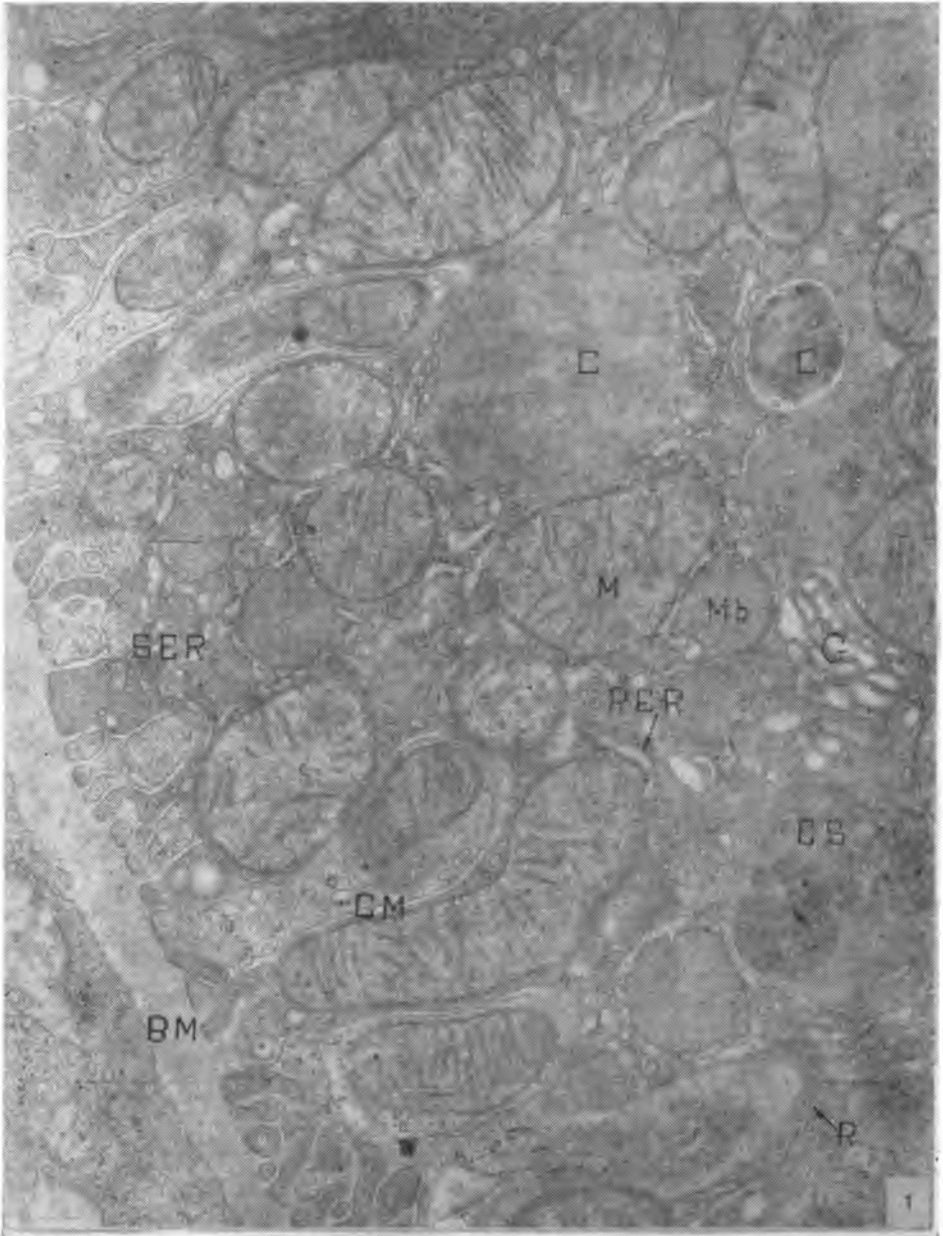
Ati	— struktury tubularne	— apical tubular invagination
AV	— wakuole apikalne	— apical vacuoles
BM	— błona podstawowa	— basement membrane
C	— cytosomy	— cytosomes
CM	— błona komórkowa	— cell membrane
CS	— cytosegresomy	— cytosegresomes
G	— układ Golgiego	— Golgi apparatus
L	— lizosomy	— lysosomes
M	— mitochondria	— mitochondria
Mb	— mikrociała	— microbodies
Mvb	— ciała wielopęcherzykowe	— multivesicular bodies
N	— jądro	— nucleus
P	— peroksysomy	— peroxisomes
R	— rybosomy	— ribosomes
RER	— siatka śródplazmatyczna szorstka	— rough — surfaced endoplasmic
		— smooth — surfaced endoplasmic
SER	— siatka śródplazmatyczna gładka	reticulum
		reticulum
Tb	— listewki graniczne	— terminal bards

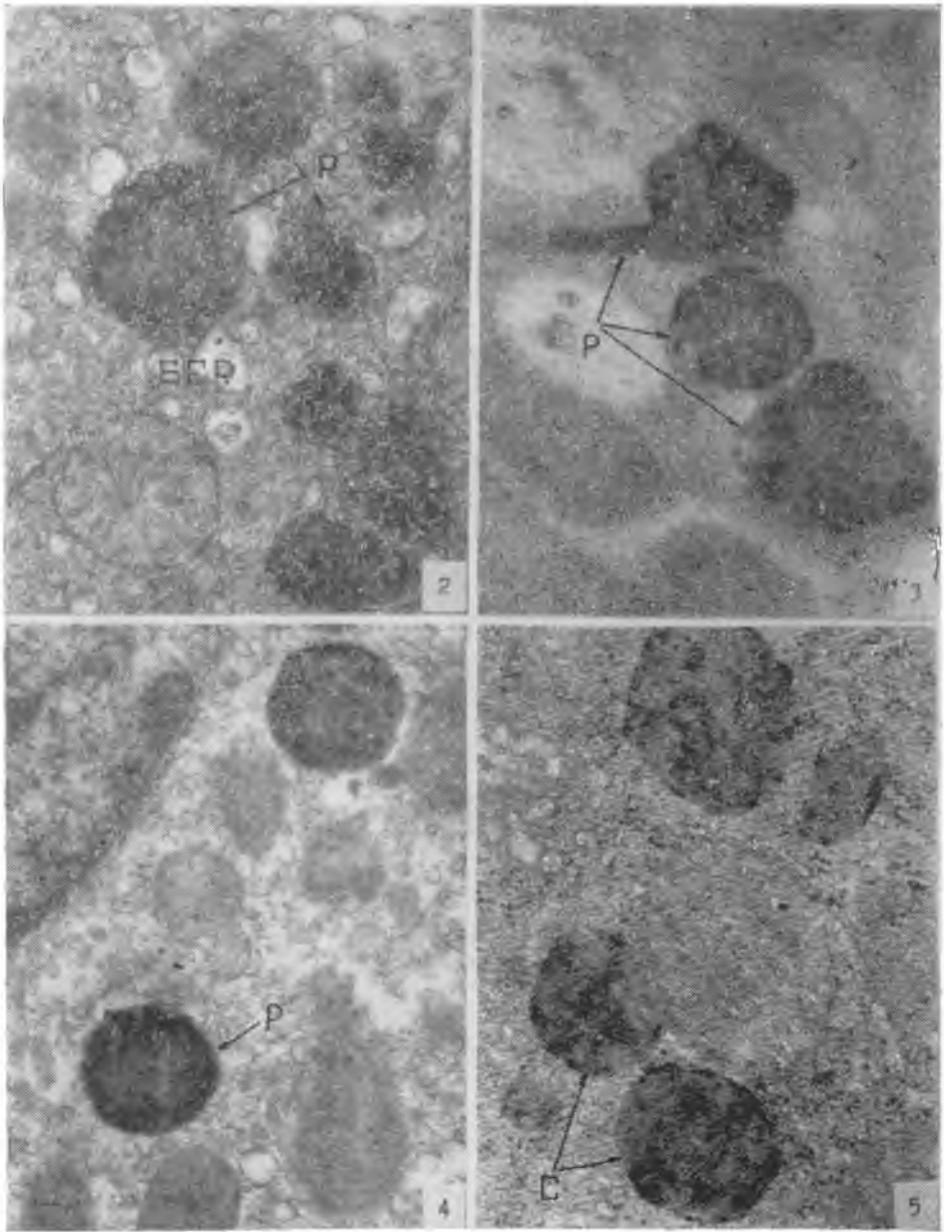
РЕЗЮМЕ

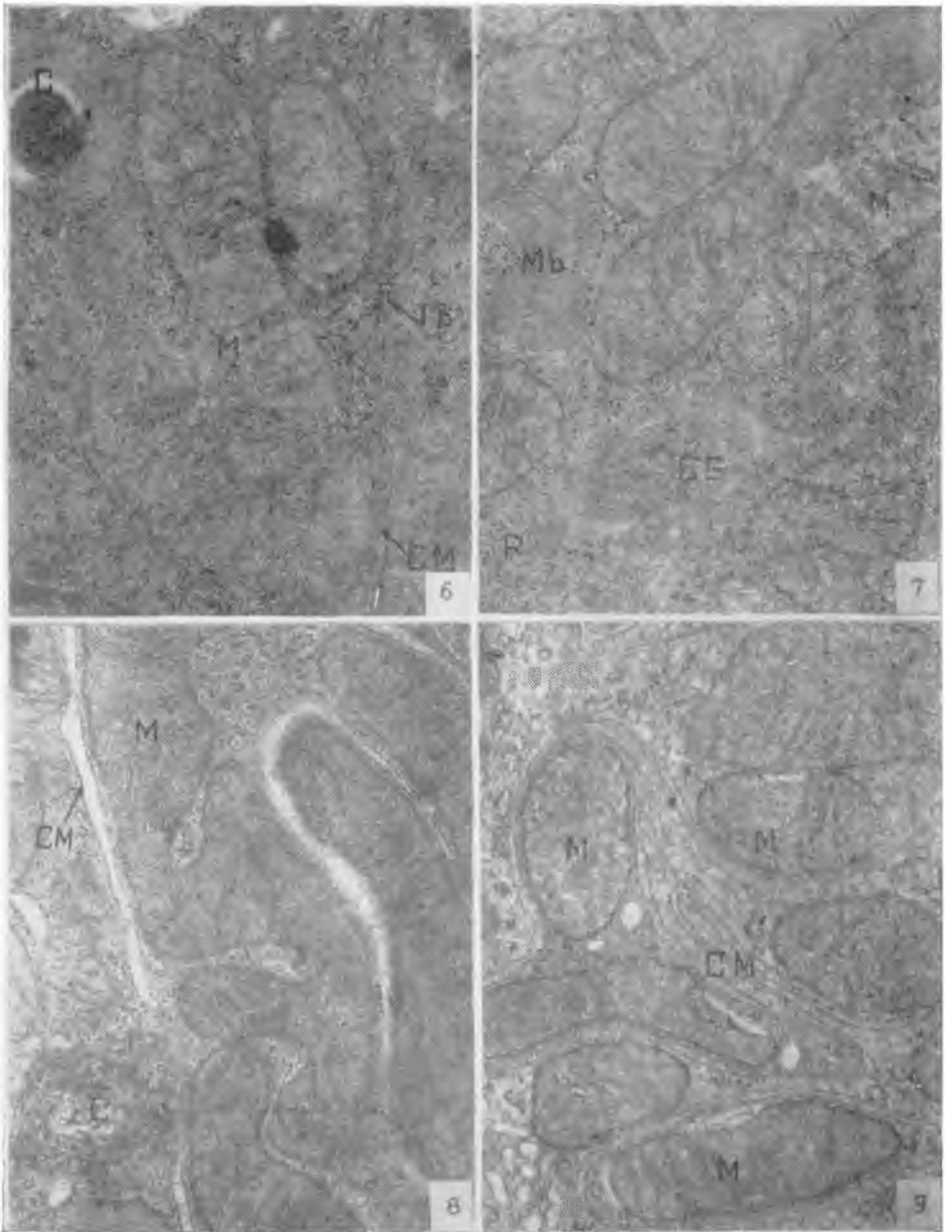
При помощи электронного микроскопа исследовались изменения, происходящие в клетках эпителия проксимальных канальцев почки крысы под влиянием этанола. В исследованиях применялись некоторые энзиматические реакции (кислая фосфатаза и каталаза). Установлено разрушение внутренней структуры митохондрий, увеличение количества пероксисомов и лизосомов, а также уничтожение внешней оболочки некоторых лизосомов.

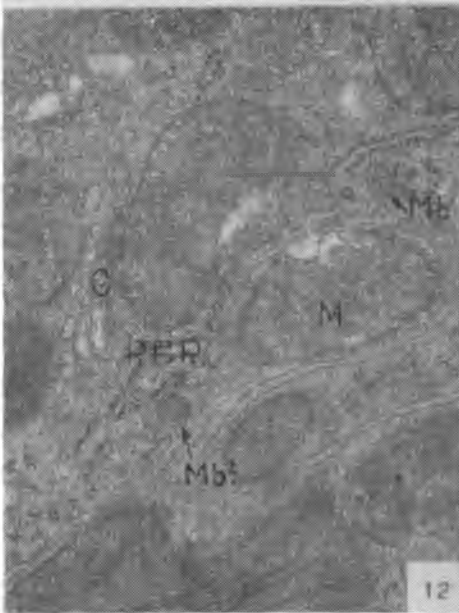
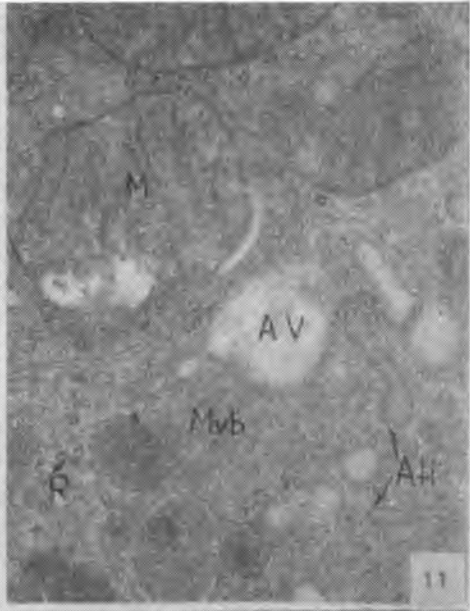
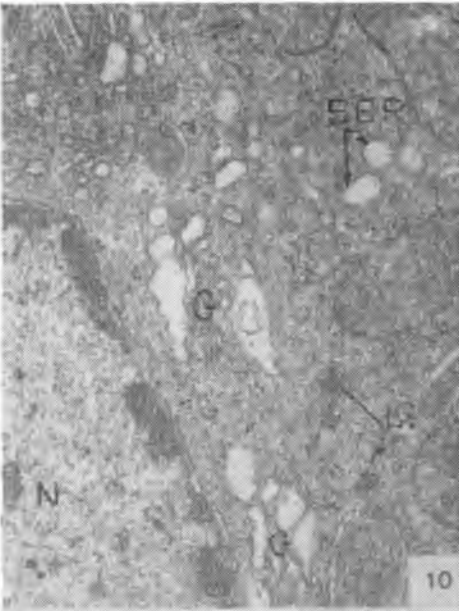
SUMMARY

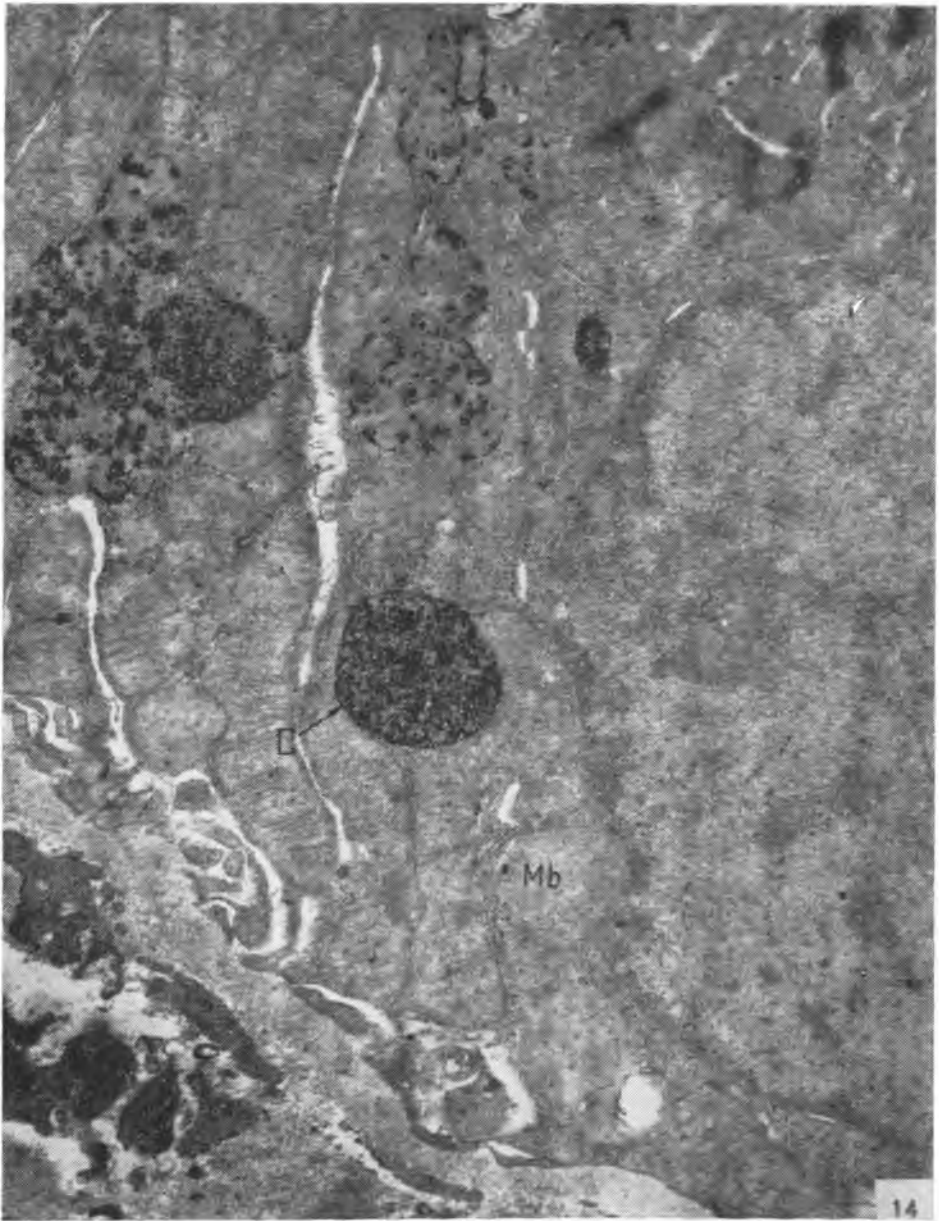
Ultrastructural alternations induced by ethanol in the epithelial cells of a rat kidney proximal tubules were examined. Some cytochemical reactions (acid phosphatase and catalase) were used in the study. Damage to the mitochondria, the increase of peroxisomes and lysosomes and interruptions in the outer membrane of some lysosomes were observed.

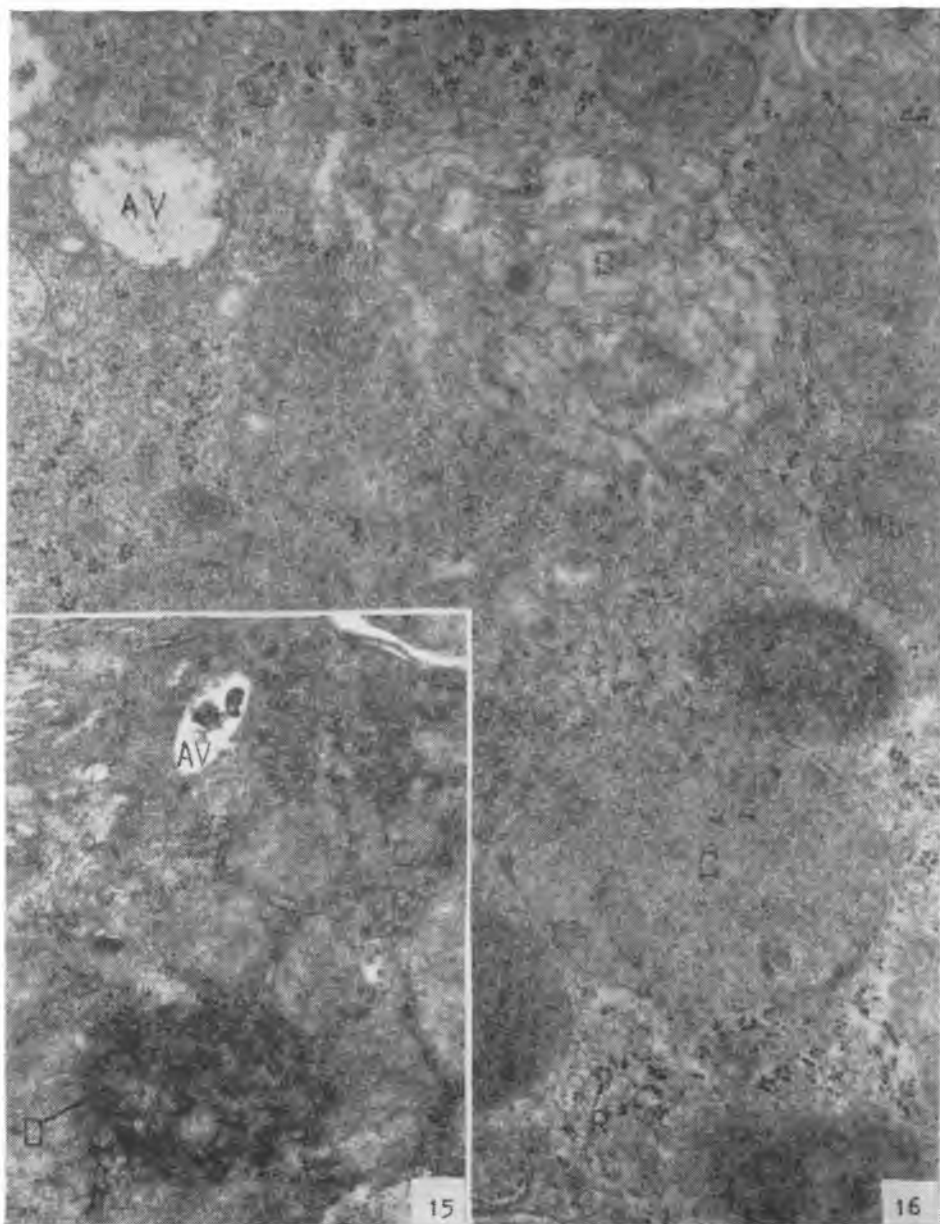


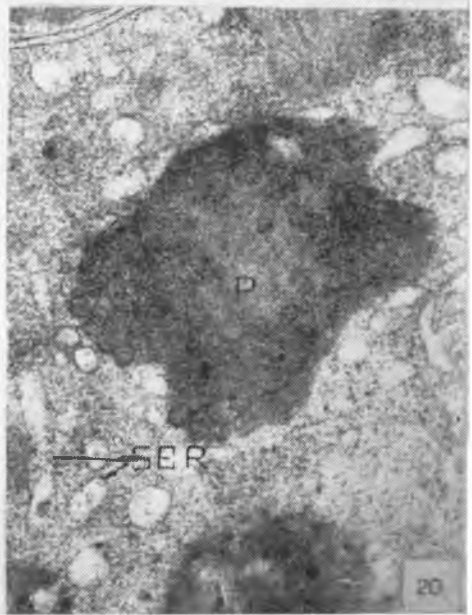
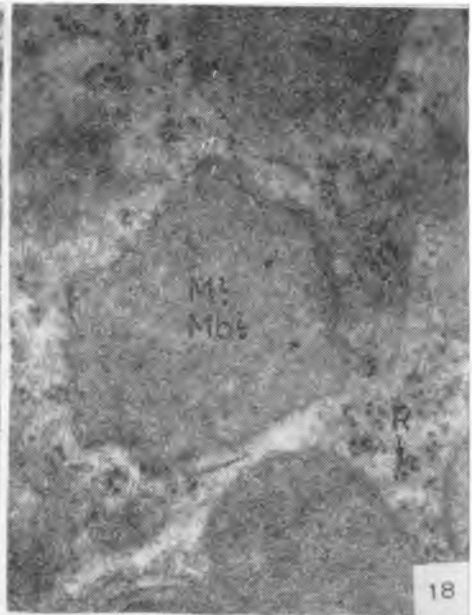
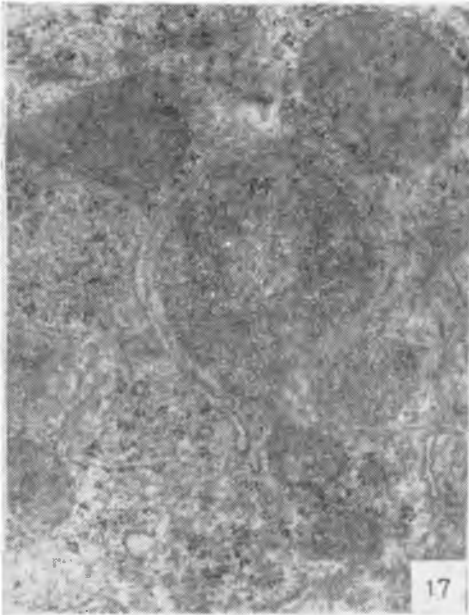












EXPLANATION OF FIGURES

Fig. 1. Control group. The cell of a rat kidney proximal tubule. Magn. 35 000×.

Fig. 2. Control group. Reaction to catalase in the cells of a rat kidney proximal tubule. Magn. 35 000×.

Fig. 3. Control group. Reaction to catalase in the cells of a rat kidney proximal tubule. Magn. 35 000×.

Fig. 4. Control group. Peroxisomes in the cell of a rat kidney proximal tubule. Magn. 35 000×.

Fig. 5. Control group. Reaction to acid phosphatase in the cells of a rat kidney proximal tubule. Magn. 36 000 ×.

Fig. 6. Experimental group I. The cell of a rat kidney proximal tubule. Magn. 35 000×.

Fig. 7. Experimental group II. The cell of a rat kidney proximal tubule. Magn. 35 000×.

Fig. 8. Experimental group II. The cell of a rat kidney proximal tubule. Magn. 35 000×.

Fig. 9. Experimental group II. The cell of a rat kidney proximal tubule. Magn. 35 000×.

Fig. 10. Experimental group II. The cell of a rat kidney proximal tubule. Magn. 35 000×.

Fig. 11. Experimental group II. The cell of a rat kidney proximal tubule. Magn. 35 000×.

Fig. 12. Experimental group II. The cell of a rat kidney proximal tubule. Magn. 35 000×.

Fig. 13. Experimental group II. Reaction to catalase in the cells of a rat kidney proximal tubule. Magn. 35 000×.

Fig. 14. Experimental group II. Reaction to acid phosphatase in the cells of a rat kidney proximal tubule. Magn. 35 000×.

Fig. 15. Experimental group III. The reaction to acid phosphatase in the cells of a rat kidney proximal tubule. Magn. 35 000×.

Fig. 16. Experimental group III. The cell of a rat kidney proximal tubule. Magn. 38 000×.

Fig. 17. Experimental group III. The cell of a rat kidney proximal tubule. Magn. 38 000×.

Fig. 18. Experimental group III. The cell of a rat kidney proximal tubule. Magn. 38 000×.

Fig. 19. Experimental group III. The cell of a rat kidney proximal tubule. Magn. 38 000×.

Fig. 20. Experimental group III. Reaction to catalase in the cells of a rat kidney proximal tubule. Magn. 38 000×.

