

Instytut Biologii UMCS, Zakład Biologii Komórki
Instytut Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa w Puławach
Zakład Biochemii i Fizjologii Roślin Uprawnych

Michał GÓRSKI, Ewa KUKIEŁKA,
Piotr M. GÓRSKI

**Zmiany we krwi oraz narządach wewnętrznych szczurów szczepu Wistar
po parenteralnym podaniu saponin lucerny**

Изменения в крови и во внутренних органах у крыс штамма Wistar после
парентеральной подачи сапонинов люцерны

Changes in the Blood and in the Internal Organs of Wistar Rats Following Paren-
teral Administration of Alfalfa Saponins

Rośliny motylkowe, używane jako karma zwierząt, wykazują często dużą zawartość saponin (3). Są to glikozydy cukrów i sterydów lub trój-terpenów pięciocyklicznych. Związki te, zwłaszcza gdy występują w roślinach w większych ilościach, mogą wywoływać szkodliwe działanie na organizm zwierzęcy.

Toksyczne działanie saponin na przeżuwacze znane jest od dawna, gdyż pasza bogata w te związki może powodować wzdęcia, a nawet śmierć zwierząt (5, 10, 11). Saponiny wywierają również szkodliwe działanie na zwierzęta jednożołądkowe. Obserwowano między innymi zahamowanie produktywności hodowli drobiu (1, 3, 10, 14).

Wśród saponin lucerny najsilniejsze działanie toksyczne na organizm zwierzęcy wywierają glikozydy kwasu medikagenowego. Przy podaniu saponin drogą parenteralną zasadnicze działanie patogenne tych związków polega na ich działaniu hemolitycznym oraz na działaniu uszkadzającym narządy mięszkowe, a przede wszystkim nerki i wątrobę (4, 8, 14, 15, 16, 22).

Niektórzy autorzy wiążą hemolityczne działanie saponin przede wszystkim z ich zdolnością do łączenia się z cholesterolem, proteinami i fosfolipidami, obecnymi w błonie erytrocytów. Połączenie saponin z ty-

mi związkami, a głównie z cholesterolem błony krwinki czerwonej powoduje zmianę jej przepuszczalności, co może w efekcie doprowadzić do zniszczenia komórki (2, 4, 20, 21). Segal i Schlösser uważają, że aktywną częścią cząsteczki saponiny podczas hemolizy erythrocytu jest aglikon nierozpuszczalny w wodzie. Według Segala i Schlössera (18), rozpad saponin powoduje znajdująca się w błonie komórkowej glikozydaza, która uwalnia w czasie hydrolizy aglikony. Uwolnione aglikony uszkadzają błonę komórkową erythrocytów (17, 19).

Saponiny niszczą błony komórkowe nie tylko czerwonych ciałek krwi, ale wpływają również szkodliwie na komórki narządów mięsnych. Wyrazem uszkodzenia tych narządów jest podwyższenie enzymów wskaźnikowych w surowicy krwi oraz wystąpienie wyraźnych zmian zawartości lipidów, zarówno w surowicy krwi, jak i w tkance wątrobowej (7).

Celem niniejszej pracy było zbadanie zmian histologicznych i histochemicznych narządów wewnętrznych oraz morfologicznego obrazu krwi szczurów po parenteralnym podaniu saponin.

MATERIAŁ I METODY

Do doświadczeń użyto 45 szczurów szczepu Wistar o średnim ciężarze ciała ok. 250 g. Zwierzęta karmione były paszą standardową. Od chwili podania saponin do momentu uśmiercenia nie otrzymywały pokarmu, a jedynie wodę bez ograniczeń. O godz. 8.00 zwierzętom wstrzykiwano domięśniowo saponiny w dawce 150 mg/kg ciężaru ciała. Skład chemiczny, charakterystykę oraz metody izolacji użytych w badaniach saponin przedstawiono w pracy poprzedniej (7).

Grupy doświadczalne liczyły po 5, zaś grupa kontrolna 10 osobników. Zwierzęta grupy I i II otrzymywały saponiny liści lucerny mieszańcowej odmiany Grima (SLLM) rozpuszczone w płynie fizjologicznym. Zwierzęta grupy III — saponiny z liści lucerny chmielowej odmiany Renata (SLLCh) w płynie fizjologicznym. Zwierzęta grupy IV — kwas medikagenowy w DMSO. Zwierzęta grupy V₁ — sól sodową kwasu medikagenowego w płynie fizjologicznym. Zwierzęta grupy VI — saponiny nasion lucerny mieszańcowej odmiany Kleszczewskiej (SNLM) rozpuszczone w dwumetylosulfotlenku (DMSO). Zwierzęta grupy VII — dwumetylosulfotlenek (DMSO) ok. 3 ml/kg ciężaru ciała szczura. Grupa VIII była grupą kontrolną.

W 2 godz. po podaniu SLLM zwierzęta grupy pierwszej uśmiercano w narkozie eterowej. Zwierzęta pozostałych grup uśmiercano po 24 godz. i pobierano krew, w której określano: 1) wskaźnik hematokrytowy (12), 2) poziom hemoglobiny metodą Drabkina w modyfikacji Greena i Teala (13), 3) poziom bilirubiny metodą spektrofotometryczną (23), 4) ilość krwinek czerwonych metodą komorową (13), 5) ilość krwinek białych metodą komorową (13), 6) obraz krwinek białych wg Arnetha-Schillinga (13).

Równocześnie pobierano wycinki z wątroby, nerek, płuc i serca i utrwalano w płynie Bakera, a następnie w wycinkach z wątroby i nerek po 5 godz. utrwalania wykonywano: 1) odczyn na fosfatazę kwaśną (FK) wg metody Gomoriego (9), 2) odczyn na fosfatazę zasadową (FZ) wg metody Gomoriego (9). W wy-

Tab. 1. Wpływ saponin i saponin na niektóre wskaźniki morfologiczne i biochemiczne krwi obwodowej szczurów szcze-
pu Wistar (wartości średnie i błędy standardowe)
The effect of saponins and saponin on some morphological and biochemical indices in the peripheral blood of the Wistar
rats (mean values and standard errors)

Liczba osobników Number of animals	Podawane związki Administered substances	E — liczba erytrocytów mln/1 mm ³ Erythrocytes in million per 1 mm ³	Ht — wskaźnik hematokrytu Hematocrit	Hb — hemoglobina Hemoglobin g/100 ml	SOK-MCV Ht × 10 ¹³ E	SWH-MCH Ht × 10 ¹⁰ E	SSH-MCHC Hb × 100% Ht	Leukocytoza tys./1 mm ³ Leukocytes in thousand per 1 mm ³
5	Saponina Saponin SLLM	11,14 ± 0,89*	65,80 ± 3,63*	21,72 ± 1,45*	59,76 ± 3,47	19,69 ± 1,25	32,93 ± 0,50	3,63 ± 0,73
5	po 2 godz. after 2 hrs							
5	po 24 godz. after 24 hrs	9,34 ± 0,55	53,30 ± 1,09	15,80 ± 1,01	57,76 ± 3,16	18,03 ± 0,69	31,49 ± 1,67	5,32 ± 1,41
5	Saponina Saponin SLLCh	8,53 ± 0,58	47,20 ± 2,13	17,13 ± 2,01	56,22 ± 3,97	20,16 ± 1,94	36,91 ± 5,20	3,98 ± 0,57
5	Kwas miedzi- kagenowy Medicagenic acid	8,76 ± 0,59	49,30 ± 2,46	16,37 ± 0,91	56,62 ± 1,49	18,92 ± 1,25	33,43 ± 2,12	3,10 ± 0,81
5	Sól sodowa kwasu me- dikageno- wego Na-salt of medicagenic acid	7,77 ± 0,58	48,30 ± 2,72	15,74 ± 1,13	63,22 ± 4,91	20,67 ± 2,07	32,60 ± 1,39	3,18 ± 0,57
5	Saponina Saponin SNLM	7,69 ± 0,31	49,20 ± 3,15	14,52 ± 1,38	63,83 ± 1,80	19,16 ± 2,20	30,11 ± 3,60	4,22 ± 0,46
5	DMSO	7,89 ± 0,38	46,40 ± 1,66	14,32 ± 0,80	59,13 ± 2,64	18,16 ± 0,65	30,95 ± 1,76	3,75 ± 0,80
10	Kontrola Control	8,37 ± 0,39	48,05 ± 1,59	14,65 ± 0,62	58,25 ± 2,54	17,84 ± 1,10	17,84 ± 1,10	5,31 ± 0,79

* Różnice statystycznie znaczne ($p < 0,05$) w stosunku do grupy kontrolnej.

• Statistical significant differences ($p < 0,05$) in relation to control group.

cinkach z wątroby wykonywano: 3) barwienie na tłuszcze przy pomocy czerwieni oleistej. Wycinki z pobranych narządów przeprowadzano do bloczków parafinowych i wykonano z nich preparaty, które barwiono przy pomocy: 4) hematoksyliny i eozyiny (H+E).

Celem stwierdzenia znamienności różnic pomiędzy wartościami wyników badań poszczególnych grup zwierząt zastosowano test *t* Studenta, przyjmując jako kryterium znamienności $p < 0,05$.

Wyniki przeprowadzonych badań zestawiono w tab. 1—2, zmiany morfologiczne oraz histochemiczne w wycinkach z narządów wewnętrznych przedstawiają mikrofotografie (ryc. 1—16).

OMÓWIENIE WYNIKÓW I DYSKUSJA

Parenteralne podanie szczurom szczepu Wistar SLLM wywołało po 2 godz. zwiększenie liczby czerwonych ciałek krwi, hematokrytu oraz zawartości hemoglobiny w krwi obwodowej. Zjawiska te można tłumaczyć wystąpieniem wstrząsu po domięśniowym podaniu saponin (któremu towarzyszy ucieczka płynów z krwi krążącej). Równocześnie zwiększenie zawartości hemoglobiny wywołane zostało obecnością hemoglobiny w surowicy krwi ze zhemolizowanych erytrocytów. Podobne wyniki otrzymali Dougherty i Lindahl (5) w 80 min. po dożylnym podaniu saponin lucerny owcom.

Po 24 godz. średnia liczba czerwonych ciałek krwi, wartość hematokrytu oraz poziom hemoglobiny były wyższe od wartości grup kontrolnych, jednak różnice te okazały się nieznamienne.

Powrót do normy liczby czerwonych ciałek krwi, zawartości hemoglobiny oraz wartości hematokrytu tłumaczyć można ustąpieniem zagęszczenia krwi równoległym do ustąpienia wstrząsu oraz częściowym wydalaniem z krwi krążącej hemoglobiny, czego dowodem jest pojawienie się już po 2 godz. licznych, a po 24 bardzo licznych wałeczków hemoglobinowych w kanalikach nerek.

Średnia liczba białych ciałek krwi w 2 godz. po podaniu SLLM oraz w 24 godz. po podaniu innych saponin i sapogenin u większości grup zwierząt była niższa od wartości grupy kontrolnej, jednak różnice te były statystycznie nieznamienne.

Skład ilościowy białych ciałek krwi uległ pewnym zmianom. Zwiększyła się bowiem liczba granulocytów obojętnochłonnych z 18% w grupie kontrolnej do 39,7% w 2 godz. po podaniu SLLM. Równocześnie wystąpił spadek ilości limfocytów z 76,9% do 57,6% oraz monocytów i granulocytów kwasochłonnych. Po 24 godz. różnice w ilości leukocytów pomiędzy grupą kontrolną a grupami doświadczalnymi były nieznamienne.

Dougherty i Lindahl (5) obserwowali natomiast u owiec w kilka minut po dożylnym podaniu saponin wybitne zmniejszenie ilości gra-

nulocytów, a po 42 min. — występowanie w rozmazie krwi niemal samych limfocytów.

We wszystkich grupach zwierząt w 24 godz. po podaniu saponin hemolizujących oraz sapogenin wystąpiło wyraźne podwyższenie poziomu bilirubiny w surowicy krwi. Zwiększona jej ilość występująca po zatruciach związkami, które powodują hemolizę i równocześnie uszkadzają miąższ wątroby, powstaje zarówno na skutek zwiększonego wytwarzania bilirubiny z uwolnionej z erytrocytów hemoglobiny oraz wskutek obniżenia zdolności wiązania i wydalania bilirubiny przez uszkodzone komórki wątroby.

Po 2 godz. od chwili podania SLLM makroskopowo znaleziono ostre przekrwienie narządów wewnętrznych, zasinienie piramid nerkowych oraz bardzo wyraźny rysunek naczyń na przekrojach nerek i wątroby. Poza tym w narządach wewnętrznych uchwytnych zmian nie zauważono.

Mikroskopowo w wycinkach z nerek stwierdzono u wszystkich zwierząt zwyrodnienie wodniczkowe i mięszkowe, a u 2 zwierząt ogniskową martwicę nabłonka kanalików krętych. U 4 zwierząt w kanalikach zbiorczych widoczne były wałeczki hemoglobinowe, nieraz bardzo liczne (ryc. 6), a w 2 przypadkach wystąpiło wodonercze (*hydronephrosis intrarenalis*). W 2 przypadkach odczyn na FZ był osłabiony.

Po 24 godz. u zwierząt, którym podano saponiny hemolizujące oraz sapogeniny znaleziono obraz tzw. nerki chromoproteinowej (28). Nerka była czerwonobrunatna z zaznaczonym rysunkiem naczyń, jedynie powierzchniowa warstwa kory nerek była szarozółta. Mikroskopowo u 19 na 20 zwierząt stwierdzono zwyrodnienie wodniczkowe oraz mięszkowe, a u 11 ogniskową martwicę nabłonka kanalików krętych (ryc. 1). U 16 zwierząt znaleziono wałeczki hemoglobinowe w kanalikach nerek (ryc. 4, 5), a u 7 wodonercze (ryc. 2). W 12 przypadkach stwierdzono osłabienie odczynu na FZ, a w 13 przypadkach wzmożenie odczynu na FK. W przypadkach tych w nabłonku kanalików nerkowych znajdowano duże, pęcherzykowate cytolizosomy (ryc. 8). W niektórych rozpadających się komórkach nabłonka kanalików odczyn na FK był ujemny, lizosomy były niewidoczne.

U zwierząt, które otrzymywały SNLM oraz DMSO, tylko w 2 przypadkach wystąpiło zwyrodnienie mięszkowe nerek, natomiast w żadnym przypadku nie znaleziono martwicy nabłonka nerkowego, wałeczków hemoglobinowych ani wodonercza. Również odczyny na FZ i FK u wszystkich tych zwierząt były prawidłowe.

Podobne zmiany w nerkach obserwowali Dougherty i Lindahl (5) po podaniu dożylnie saponin lucerny owcom. U zwierząt tych wystąpiło zwyrodnienie nabłonka kanalików I i II rzędu oraz bardzo liczne wałeczki hemoglobinowe, głównie w warstwie rdzennej nerek. Uebel

Tab. 2. Zmiany morfologiczne w narządach
Morphological changes in the internal

Podane związki Administered substances	Zwyrodnienie wodnicz- kowe Hydropic degenera- tion	Martwica nabłonka kanalików Necrosis of epithelium	Walczki- Casts			Wodone- nercze Hydro- nephrosis	FZ odczyn osłabiony Weak reaction to AP	FK odczyn wzmó- żony Intense reaction to AcP	
			bardzo liczne numerous	obecne present					
Saponina SLLM									
Saponin SLLM	5*	2	3	1	2	2	—		
po 2 godz. after 2 hrs									
po 24 godz. after 24 hrs	5	4	4	—	2	4	4		
Saponina SLLCh									
Saponin SLLCh	5	5	4	1	3	5	5		
Kwas me- dikege- nowy Medica- genic acid	4	—	—	3	—	1	1		
Sól sodowa kwasu medika- genowe- go Na-salt medica- genic acid	5	2	2	2	2	2	3		
Saponina SNLM									
Saponin SNLM	1	—	—	—	—	—	—		
DMSO	1	—	—	—	—	—	—		

* Poszczególne cyfry oznaczają liczbę zwierząt z wymienionymi zmianami.

* Figures indicate the number of the animals with respective changes. Each

i Patt (24) po parenteralnym podaniu myszom i szczurom aescyny (saponina *Aesculus hippocastanum*) znajdowali masy hemoglobi-
nowe w przestrzeniach okołokłębkowych i w kanalikach nerkowych, wodone-
rce oraz martwicę nabłonka kanalików krętych.

wewnętrznych szczurów szczepu Wistar
organs of the Wistar rats

Wątroba — Liver				Serce Heart	Płuca Lungs	Surowica krwi Serum
Zwyrodnienie mięszkowe Parenchymatous degeneration	Ogniska stłuszczenia Foci of fatty degeneration	Ogniskowa martwica Focal necrosis	FK odczyn wzmógłony Intense reaction to AcP	Wylewy krwi Haemor rhage	Wylewy krwi Haemor rhage	Bilirubina Bilirubin mg/100 ml
3	—	—	3	—	—	—
5	3	4	4	2	1	3,2
5	2	3	5	2	2	1,8
5	3	3	4	2	1	4,0
4	4	1	3	1	2	5,4
4	3	—	1	—	—	1,3
2	1	—	1	—	—	0,8

Każda grupa liczyła po 5 zwierząt.
group included 5 animals.

W badaniach naszych znaleziono mikroskopowo w wycinkach z wątroby w 2 godz. od chwili podania SLLM w 3 przypadkach na 5 zwyrodnienie mięszkowe. Również w 3 przypadkach odczyn na FK był wzmógłony, a w hepatocytach widoczne pęcherzykowate lizosomy. Po 24 godz.

u zwierząt, którym podano saponiny hemolizujące oraz sapogeniny, wystąpiło zwyrodnienie mięszone w 19 na 20 przypadków, stłuszczenie w 12 (ryc. 11, 12), ogniskowa martwica w 11 (ryc. 9, 10) oraz wylewy krwi do mięszu w 7 przypadkach. W 16 przypadkach odczyn na FK był wzmożony, a ogniskowo stwierdzano odczyn dyfuzyjny lub brak odczynu (ryc. 14, 15). Bardzo wyraźny odczyn znajdowano w komórkach Browicza-Kupffera. Jednak również w grupach zwierząt, którym podawano saponiny nie hemolizujące oraz DMSO obserwowano w pojedynczych przypadkach zwyrodnienie mięszone, ogniskowe stłuszczenie oraz wzmożenie odczynu na FK.

Obserwacje nasze pokrywają się z doniesieniami innych autorów, którzy u owiec, szczurów i królików po parenteralnym podaniu saponin znajdowali przekrwienie, stłuszczenie, martwicę pojedynczych komórek, lub grup komórek oraz w niektórych przypadkach wylewy krwawe do mięszu wątroby (5, 24, 25).

W wycinkach z mięśnia sercowego u większości zwierząt po saponinach hemolizujących znajdowano zwyrodnienie mięszone, a w 6 przypadkach wylewy krwi podnasilczowe lub do mięśnia sercowego. W 2 przypadkach znaleziono wylewy krwawe do mięszu płucnego (ryc. 16). Również inni autorzy opisywali w ostrych zatruciach saponinami wylewy krwi do mięszu płucnego, mięśnia serca oraz wylewy ponadnasilczowe i podwsilczowe (5, 24).

W przedstawionych badaniach po parenteralnym podaniu saponin hemolizujących oraz sapogenin na pierwszy plan wysunęły się zmiany wywołane masywną hemolizą czerwonych ciałek krwi, a następnie zmiany wsteczne (zwyrodnienie mięszone, stłuszczenie i martwica) w nerkach i w wątrobie.

Należy rozważyć, czy uszkodzenie narządów mięszone zostało wywołane bezpośrednim cytotoksycznym działaniem saponin na komórki, czy też zmiany te były wtórnym zjawiskiem spowodowanym wstrząsem hemolitycznym i niedostatkami tlenu z wszystkimi tego następstwami. Wydaje się, że oba te mechanizmy trzeba brać pod uwagę, gdyż z jednej strony uszkodzenia narządów mięszone występują również po wstrząsie hemoglobiowym, w którym hemoliza spowodowana była innymi czynnikami aniżeli saponiny. Z drugiej zaś strony w naszych badaniach saponina nie hemolizująca spowodowała również zmiany morfologiczne w wątrobie i nerce szczurów oraz wyraźne podniesienie w surowicy krwi aktywności tzw. „enzymów uszkodzenia” (7).

Według wielu autorów patomechanizm zmian prowadzących do śmierci po letalnych dawkach saponin polega przede wszystkim na masywnej hemolizie krwinek czerwonych, uszkodzeniu nerek oraz na toksycznym działaniu saponin na ośrodkowy układ nerwowy (5, 15, 26). Czas przeży-

cia zwierząt zależy od drogi podania, wielkości dawki oraz rodzaju podanej saponiny. Według Cheeke'go (4) po podaniu parenteralnym saponiny wykazują 10—1000 razy większą toksyczność niż po podaniu przez przewód pokarmowy.

Lindah1, Davis i Tertell (11) oraz Dougherty i Lindahl (5) obserwowali po dożylnym podaniu 3—5 g saponin lucerny owcom wystąpienie ostrego wzdęcia po 20 min., a zapaść i śmierć po kilkudziesięciu minutach. Po podaniu 2 g wzdęcie występowało po 2—3 godz., a śmierć zwierzęcia po 2—3 dniach. Po podaniu dożylnym 1 g saponin lucerny na 9 owiec padło 7, a czas przeżycia zwierząt wahał się od 2 do 7 dni. Autorzy uważają, że saponiny lucerny przy podaniu dożylnym wykazują 50—60 razy wyższą toksyczność niż po podaniu drogą pokarmową. Vogel i Merck (25) określili dla szczurów wysokość LD_{50} 6 różnych saponin w granicach 1,9—16,8 mg/kg przy podaniu dożylnym. Natomiast LD_{50} tych saponin przy podaniu doustnym przekraczała dawki 50—160 mg/kg.

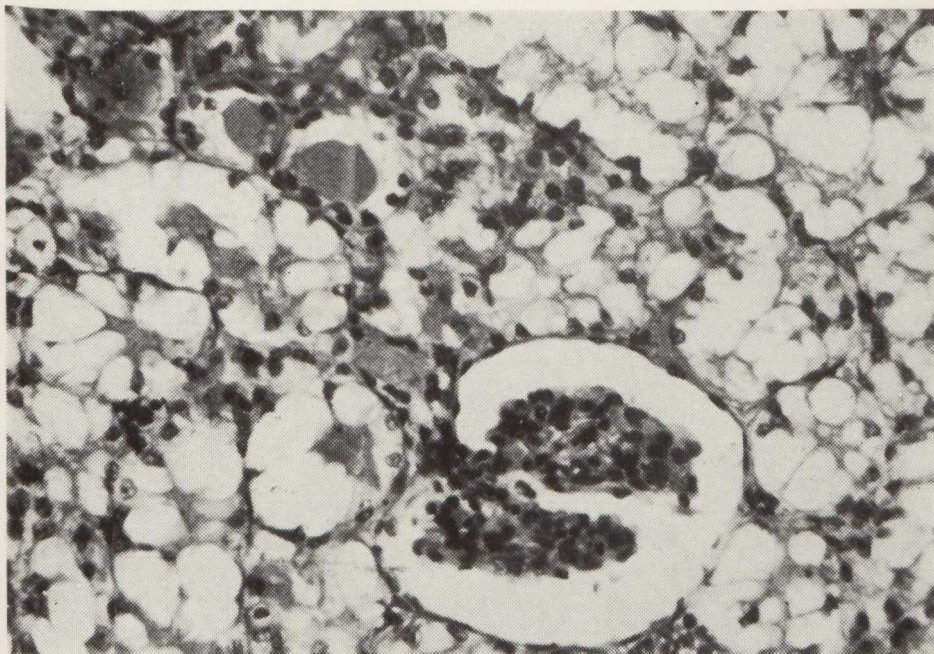
Są również saponiny, których toksyczność jest znacznie mniejsza i które stosowane są w terapii ludzkiej. Dożylne dawki dzienne tych saponin wynoszą 300 mg i po kilkumiesięcznym podawaniu nie wywierają szkodliwego działania na organizm (27).

Jak wynika z przedstawionych badań oraz z pierwszej części badań wcześniej opublikowanych (7), saponiny zawierające kwas medikagenowy oraz wyosobniony z nich kwas medikagenowy i jego sól sodowa przy podaniu parenteralnym działają na organizm szczura silnie toksycznie. Działanie to polega przede wszystkim na wywoływaniu masywnej hemolizy oraz na bezpośrednim toksycznym wpływie na narządy mięszone zwierzęcia.

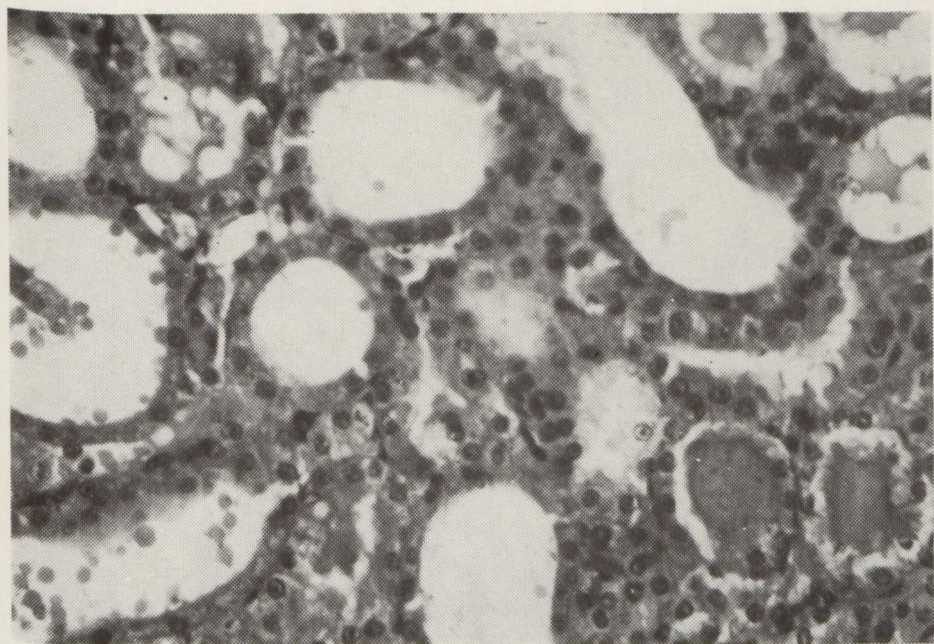
PIŚMIENICTWO

1. Anderson J. O.: Effect of Alfalfa Saponins on the Performance of Chicks and Laying Hens. *Poultry Sci.* **36**, 873—876 (1957).
2. Assa Y., Shany S., Gestetner B., Tencer Y., Birk Y., Bondi A.: Interaction of Alfalfa Saponins with Components of the Erythrocyte Membrane in Hemolysis. *Biochem. Biophys. Acta* **307**, 83—91 (1973).
3. Cebo B., Krupińska J., Sobański H., Mazur J., Czarnecki R.: Własności farmakologiczne frakcji saponinowych otrzymanych z surowców krajowych: *Saponaria officinalis*, *Primula officinalis* i *Aesculus hippocastanum*. *Herba polonica* **2**, 154—162 (1976).
4. Cheeke P. R.: Nutritional and Physiological Implications of Saponins. A Review. *Can. J. Anim. Sci.* **51**, 621—632 (1971).
5. Dougherty R. W., Lindahl I. L.: Alfalfa Saponins, Studies on their Chemical, Pharmacological, and Physiological Properties in Relation to Ruminant Bloat. *U.S. Dept. Agr. Tech. Bull.* **41**—60 (1957).

6. Ishaaya I., Brik Y.: Soybean Saponins: The Effect of Proteins on the Inhibitory Activity of Soybean Saponins on Certain Enzymes. *J. Food Sci.* **30**, 118—120 (1965).
7. Jankowska-Chadaj E., Górski M., Górski P. M., Jurzysta M.: Wpływ saponin lucerny na niektóre wskaźniki biochemiczne krwi i wątroby szczurów szczepu Wistar przy podaniu parenteralnym. *Ann. UMCS, sectio C* **34**, (1979).
8. Kaku T., Miyata T., Uruno T., Sako I., Kinoshita A.: Chemopharmacological Studies on Saponins of *Panax ginseng* C. A. Meyer. *Arzneim.-Forsch. (Drug Res.)* **26**, 539—547 (1975).
9. Krygier A., Godlewski H.: Skrypt metod histochemicznych. Polskie Towarzystwo Histochemików i Cytochemików Warszawa 1963.
10. Liener I. E.: Toxic Constituents of Plant Foodstuffs. Academic Press, New York—London 1969. Rozdział 7. Saponins—Birk Y. 169—210.
11. Lindahl J. L., Davis R. E., Tertell R. T.: Production of Bloat and Other Symptoms in Intact Sheep by Alfalfa Saponin Administration. *U.S. Dept. Agr. Tech. Bull.* **2—15** (1957).
12. Pawelski S.: Diagnostyka laboratoryjna w hematologii. PZWL, Warszawa 1977.
13. Pinkiewicz E.: Podstawowe badania laboratoryjne w chorobach zwierząt. PWRiL, Warszawa 1971.
14. Reshef G., Gestetner B., Birk Y., Bondi A.: Effect of Alfalfa Saponins on the Growth and some Aspects of Lipid Metabolism of Mice and Quails. *J. Sci. Fd. Agric.* **27**, 63—72 (1976).
15. Rothkopf M., Vogel G., Lang E.: Animal Experiments on the Question of the Renal Toleration of the Horse Chesnut Saponin. *Aescin. Arzneim.-Forsch.* **27**, 598—605 (1977).
16. Segal R., Mansour M., Zaitschek D. V.: Effect of Ester Groups on the Hemolytic Action of some Saponins and Sapogenins. *Biochem. Pharmac.* **15**, 1411—1416 (1966).
17. Segal R., Milo-Goldzweig I.: On the Mechanism of Saponin Hemolysis-II. Inhibition of Hemolysis by Aldonolactones. *Biochem. Pharmac.* **24**, 77—81 (1975).
18. Segal R., Schlösser E.: Role of Glycosidases in the Membranolytic Antifungal Action of Saponins. *Arch. Microbiol.* **104**, 147—150 (1975).
19. Segal R., Shatkovsky P., Milo-Goldzweig I.: On the Mechanism of Saponin Hemolysis-I. Hydrolysis of the Glycosidic Bond. *Biochem. Pharmac.* **23**, 973—981 (1974).
20. Schlösser E.: Interaction of Saponins with Cholesterol, Lecithin and Albumin. *Can. J. Physiol. Pharm.* **47**, 487—490 (1969).
21. Schlösser E.: Sterol Dependent Membranolytic Action of Saponins. *Phytopath. Z.* **74**, 91—94 (1972).
22. Strobbe R., Charlier G., Debecq J., van Aert A.: Studies about the Adjuvant Activity of Saponin Fractions in Foot and Mouth Disease Vaccine. *Arch. Exp. Vet. Med. (Leipzig)* **30**, 173—181 (1976).
23. Tomaszewski L.: Mikrometody biochemiczne w laboratorium klinicznym PZWL, Warszawa 1970.
24. Uebel H., Patt P.: Das therapeutisch wirksame Prinzip der Rosskastanie (*Aesculus hippocastanum*). *Arzneim.-Forsch.* **10**, 280—284 (1960).

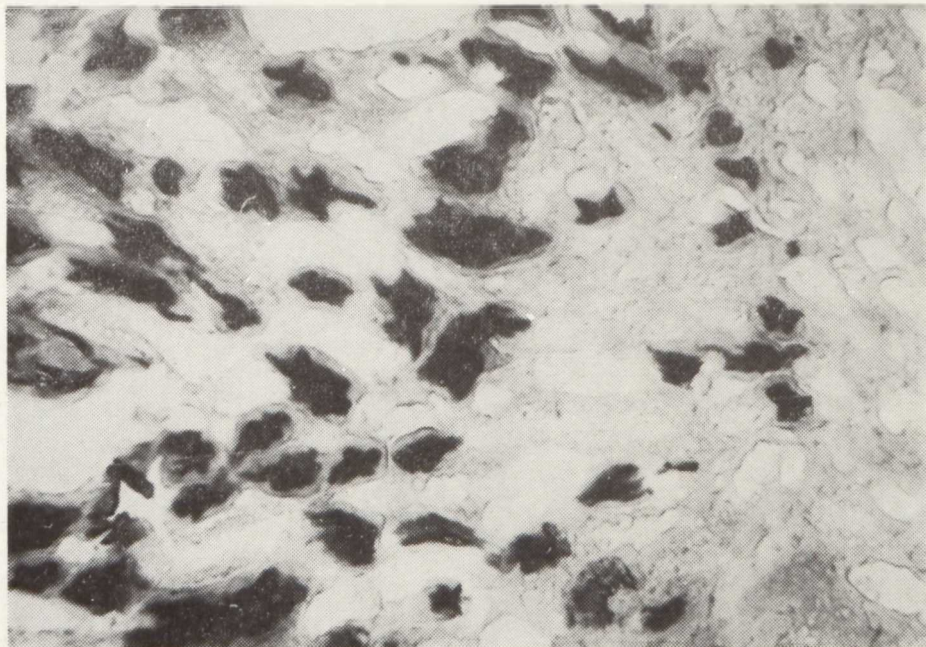


Ryc. 1



Ryc. 2

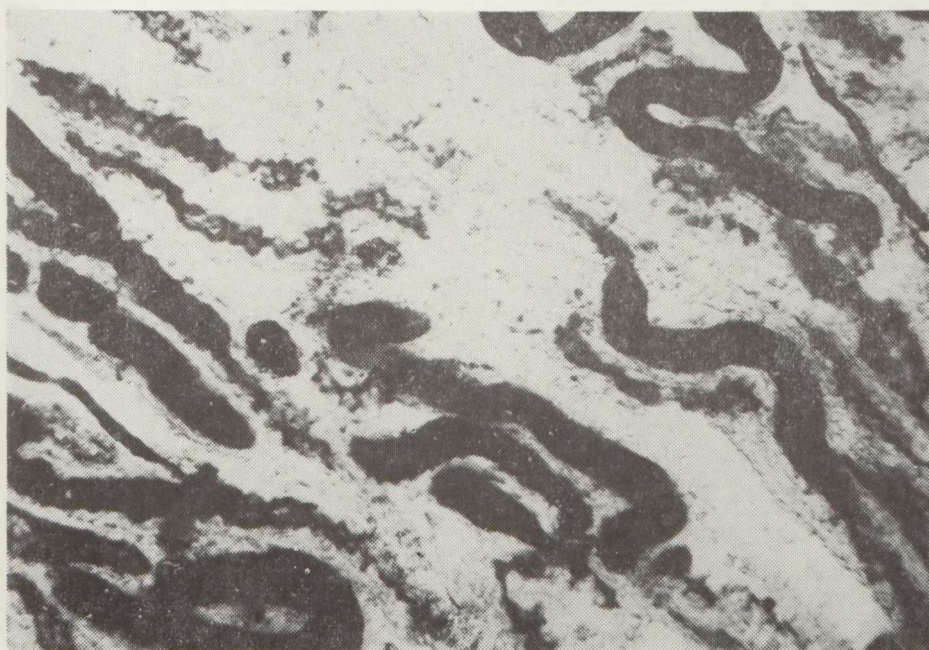
Michał Górski, Ewa Kukielka, Piotr M. Górski



Ryc. 3



Ryc. 4

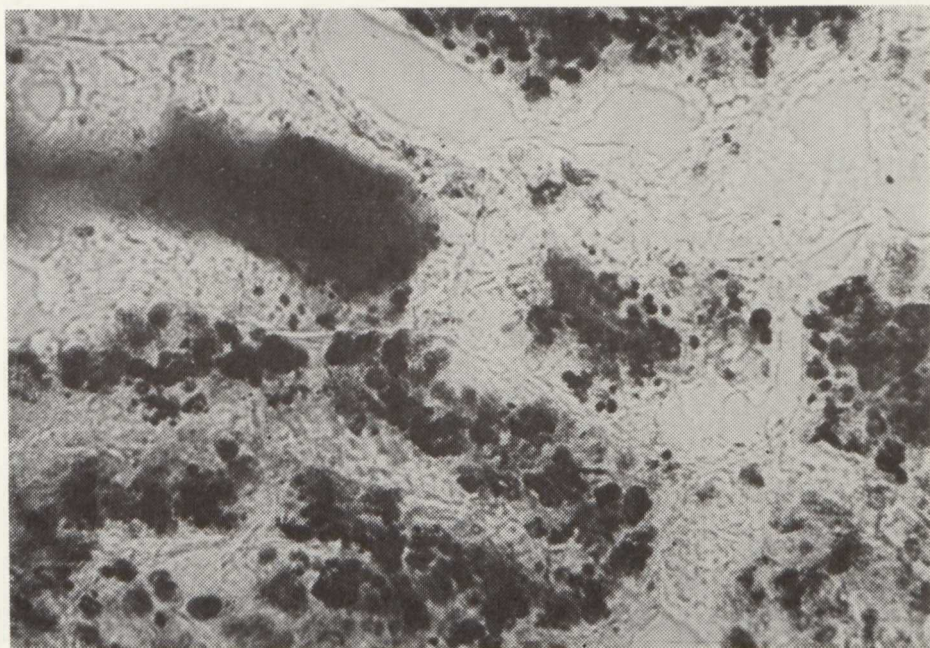


Ryc. 5

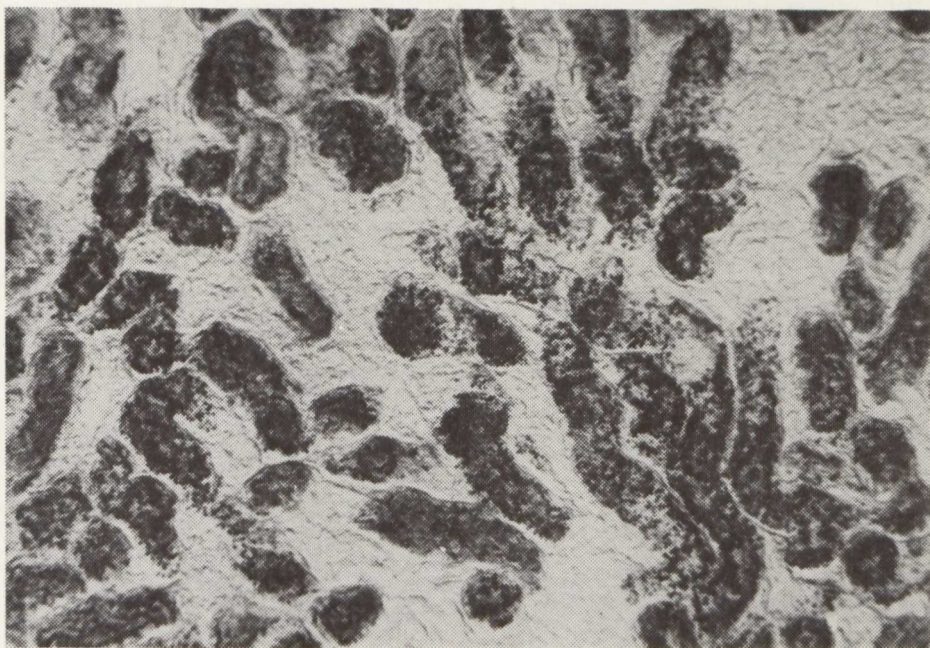


Ryc. 6

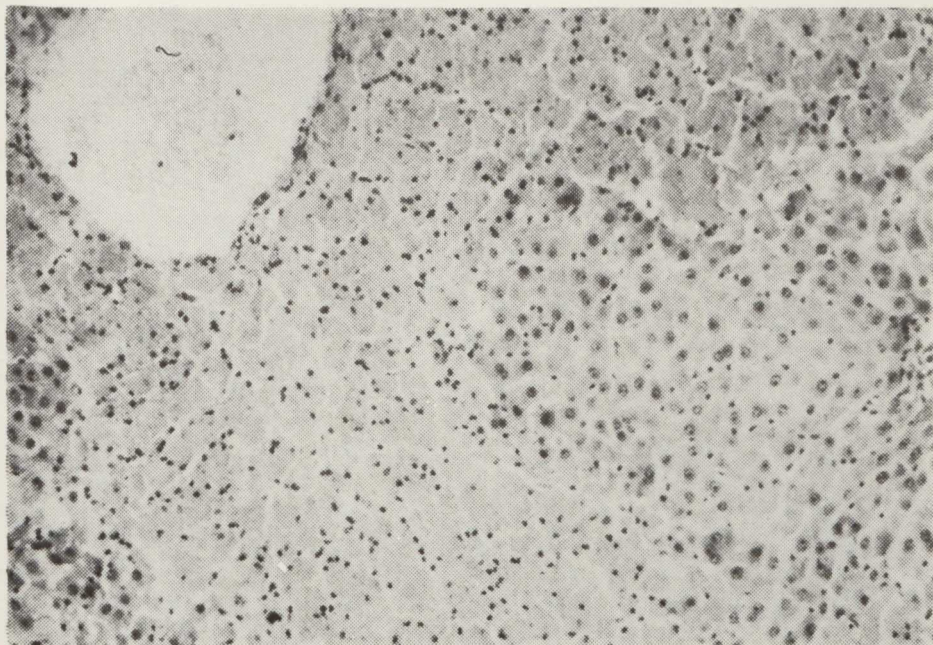
Michał Górski, Ewa Kukielka, Piotr M. Górski



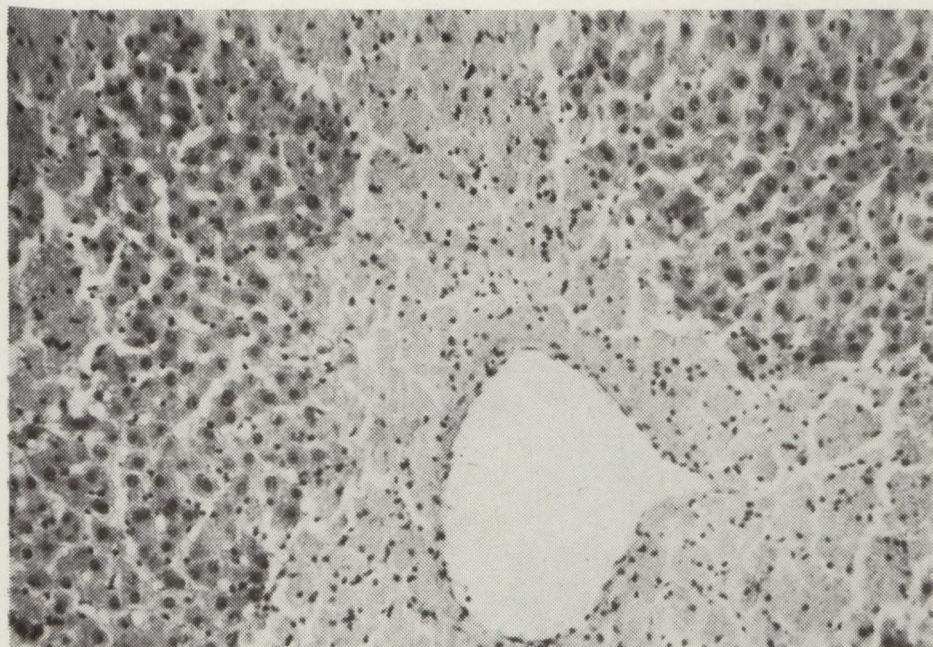
Ryc. 7



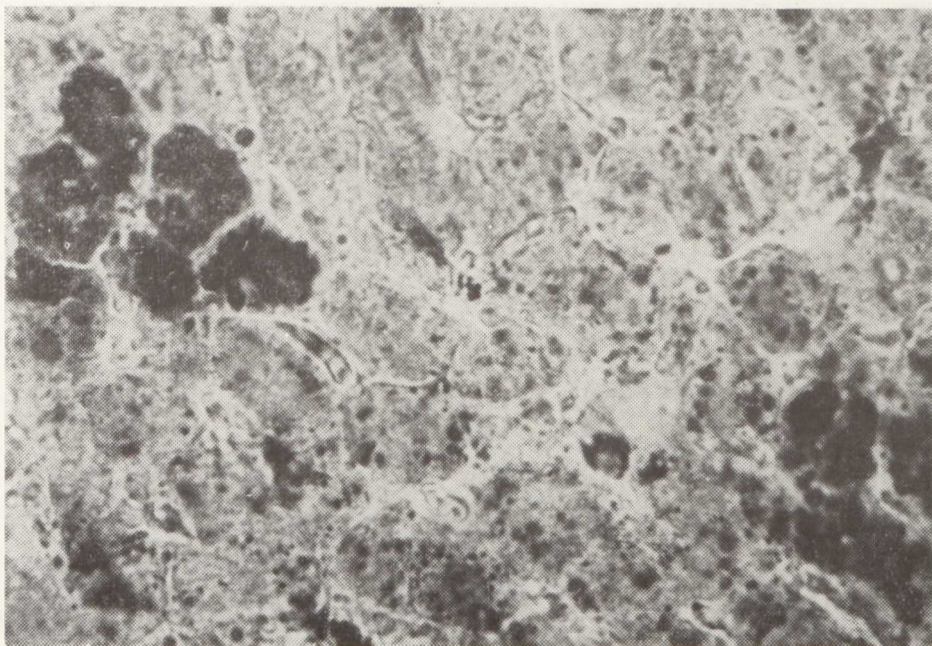
Ryc. 8



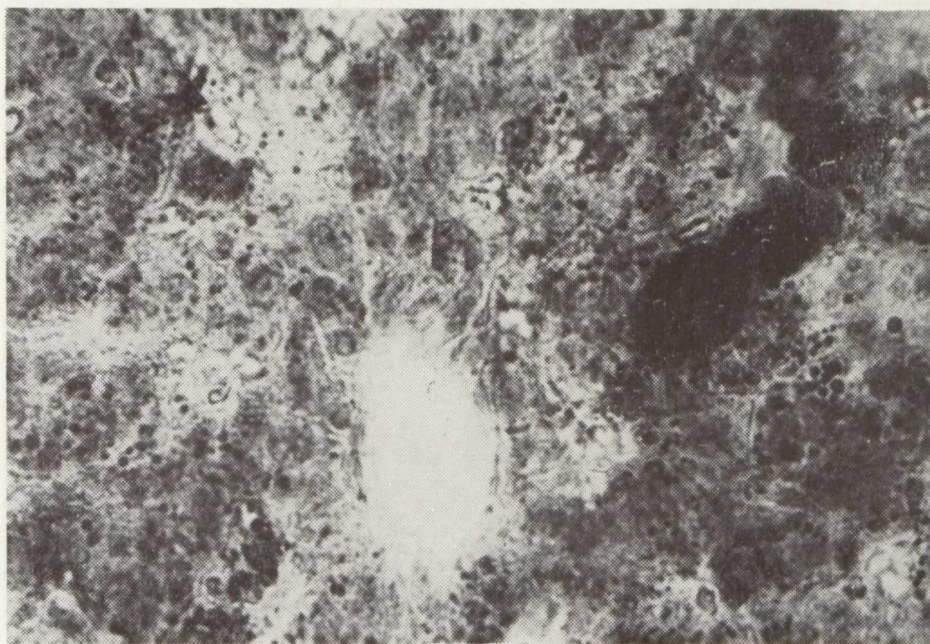
Ryc. 9



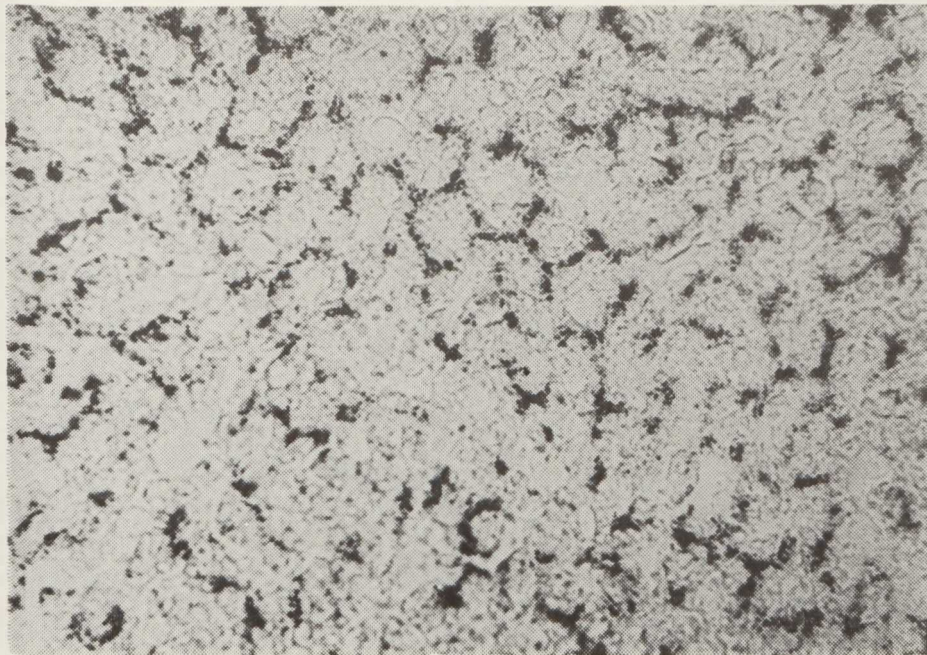
Ryc. 10



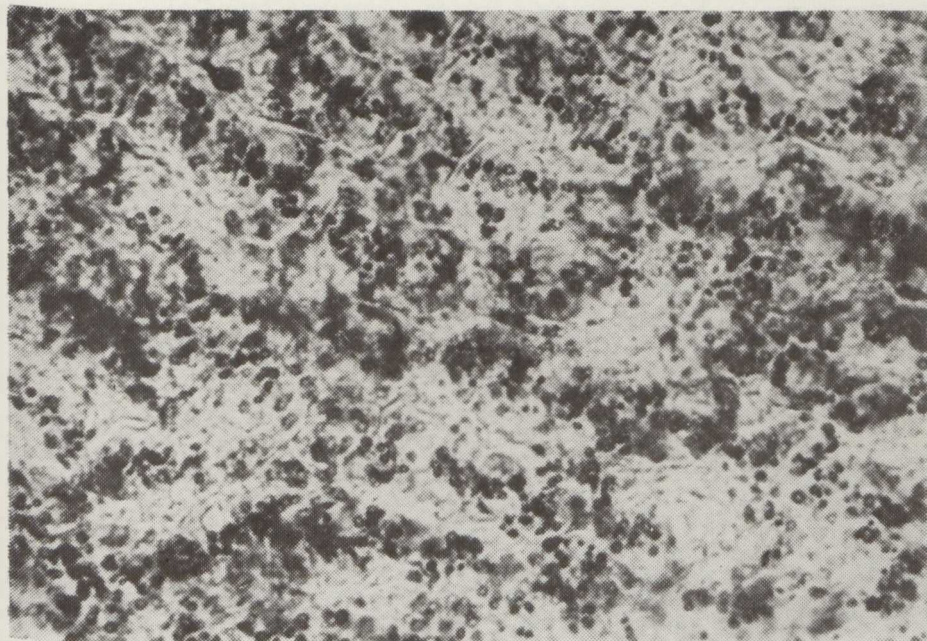
Ryc. 11



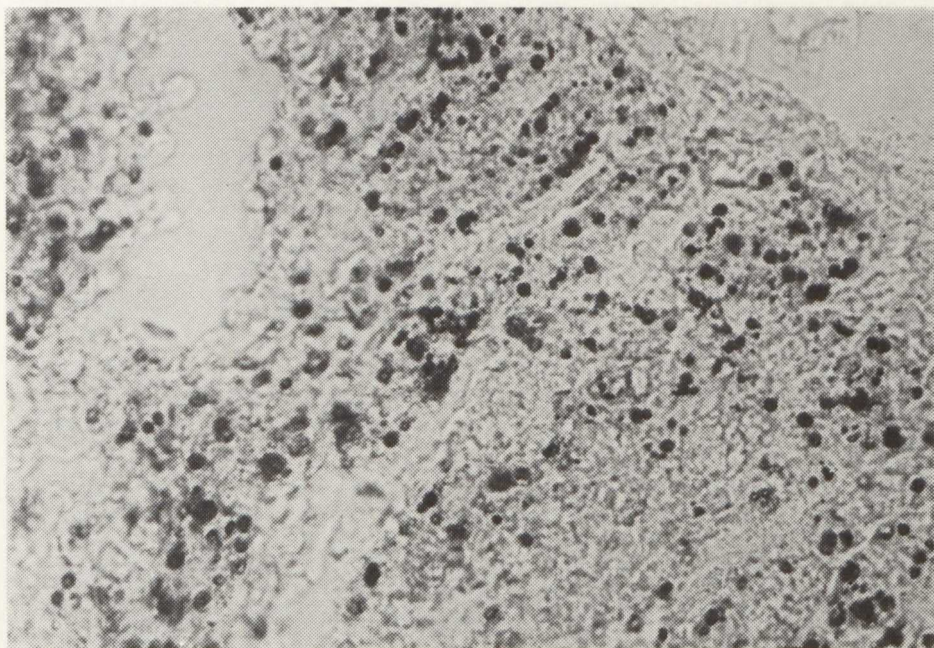
Ryc. 12



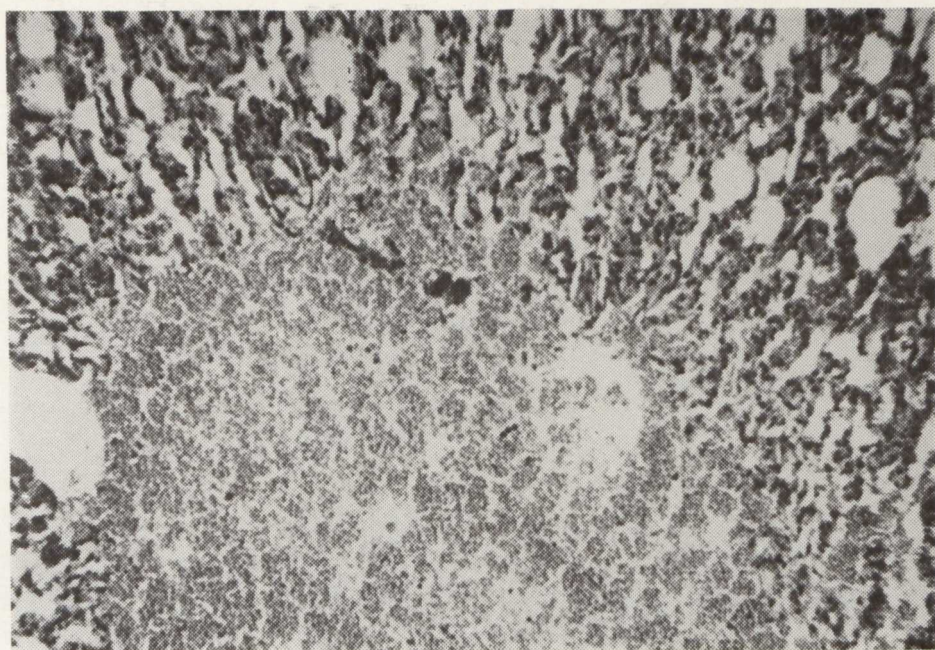
Ryc. 13



Ryc. 14



Ryc. 15



Ryc. 16

25. Vogel G., Marek M.-L.: Zur Pharmakologie einiger Saponine. *Arzneim.-Forsch. (Drug Res.)* **12**, 815—825 (1962).
26. Vogel G., Marek M.-L., Oertner R.: Untersuchungen zum Mechanismus der therapeutischen und toxischen Wirkung des Rosskastanien-Saponins Aescin. *Arzneim.-Forsch. (Drug Res.)* **20**, 699—703 (1970).
27. Zacharow W. N.: Gipolipidemiczeskaja effiektivnost' diosponina pri aniemicheskoj bolezni sierdca w zawisimosti ot tipa gipierlipoprotieidii. *Kardiologija* **17**, 136—137 (1977).
28. Zollinger H. U.: *Anatomia patologiczna. PZWL, Warszawa 1977.*

OPIS MIKROFOTOGRAFII

Ryc. 1. Nerka zwierzęcia z grupy II. Zwyródnienie i martwica nabłonkowa kanalików krętych, poszerzona przestrzeń okołokłębkowa, pojedyncze wałeczki w kanalikach. Barwienie H+E, pow. ok. 400×.

Ryc. 2. Nerka zwierzęcia z grupy III. Wałeczki w kanalikach nerkowych, wodnercze. Barwienie H+E, pow. ok. 400×.

Ryc. 3. Nerka zwierzęcia z grupy kontrolnej. Prawidłowy odczyn na FZ. Odczyn na FZ, pow. ok. 200×.

Ryc. 4. Nerka zwierzęcia z grupy II. Bardzo liczne wałeczki hemoglobinowe, dające intensywny odczyn na FZ, odczyn w nabłonku kanalików nerkowych osłabiony. Odczyn na FZ, pow. ok. 200×.

Ryc. 5. Nerka zwierzęcia z grupy III. Bardzo liczne wałeczki, dające intensywny odczyn na FZ. Odczyn na FZ, pow. 200×.

Ryc. 6. Nerka zwierzęcia z grupy I. Wałeczki hemoglobinowe widoczne w kanalikach warstwy rdzennej. Odczyn na FZ, pow. ok. 150×.

Ryc. 7. Nerka zwierzęcia z grupy kontrolnej. Prawidłowy odczyn na FK. Odczyn na FK, pow. ok. 150×.

Ryc. 8. Nerka zwierzęcia z grupy III. Odczyn wzmożony, duże pęcherzykowate cytolizosomy w komórkach kanalików nerek. W jednym z kanalików wałeczek dający dodatni odczyn na FK. Odczyn na FK, pow. ok. 400×.

Ryc. 9. Wątroba zwierzęcia z grupy V. Rozległe ogniska martwicy. Barwienie H+E, pow. ok. 150×.

Ryc. 10. Wątroba zwierzęcia z grupy IV. Rozległe pola martwicy wokół naczyńa żylnego. Barwienie H+E, pow. ok. 150×.

Ryc. 11. Wątroba zwierzęcia z grupy II. Grupy komórek wątroby zawierają liczne duże krople tłuszczu. Barwienie czerwienią oleistą, pow. ok. 400×.

Ryc. 12. Wątroba zwierzęcia z grupy V. Liczne komórki wątrobowe zawierają zwiększoną ilość ciał tłuszczowych, grupy komórek prawie całkowicie wypełnione zlewającymi się kroplami tłuszczu. Barwienie czerwienią oleistą, pow. ok. 400×.

Ryc. 13. Wątroba zwierzęcia z grupy kontrolnej. Prawidłowy odczyn na FK. Odczyn na FK, pow. ok. 150×.

Ryc. 14. Wątroba zwierzęcia z grupy V. Odczyn wzmożony, w niektórych komórkach dyfuzyjny. Odczyn na FK, pow. ok. 400×.

Ryc. 15. Wątroba zwierzęcia z grupy III. Duże, pęcherzykowate cytolizosomy, w niektórych komórkach pojedyncze lizosomy, odczyn dyfuzyjny lub całkowity brak odczynu. Odczyn na FK, pow. ok. 400×.

Ryc. 16. Płuco zwierzęcia z grupy IV. Wylew krwi do mięszu płucnego. Barwienie H+E, pow. ok. 100×.

РЕЗЮМЕ

Крысы штамма Wistar получали парентерально сапонины и сапогенины, полученные из люцерны. Через 2 часа после подачи гемолизированного сапонина обнаружено увеличение гематокритового числа и количества эритроцитов и, кроме того, небольшое процентное увеличение количества гранулоцитов по сравнению с лимфоцитами. Эти изменения произошли вследствие сильного гемолизного шока.

Самые большие патологические изменения обнаружены в почках и печени животных. В почках наступил некроз эпителия извилистых канальцев, появились гемоглобиновые цилиндры и гидронефроз. Реакция на основную фосфатазу была ослабленной, а на кислую фосфатазу усиленной. В печени наблюдалось паренхиматозное передождение, ожирение, очаги некроза и единичные кровоточные очаги. В гепатоцитах видны были большие пузырьчатые цитоллизосомы. Обнаружено также паренхиматозное перерождение сердечной мышцы, субмиокардное кровоизлияние и внутримышечное миокардное кровоизлияние, а также кровоизлияние в паренхиму легкого.

Особенно сильные изменения наблюдали в группах животных после подачи гемолизированных сапонинов и их сапогенинов. После подачи гемолизированного сапонина в нескольких случаях произошло паренхиматозное перерождение почек и печени.

SUMMARY

Alfalfa saponins and sapogenins were parenterally administered to Wistar rats. An increase in the hematocrit level, in the number of erythrocytes, and in the ratio of neutrophils to lymphocytes were found out two hours after administration of hemolytic saponins. These changes were possibly due to the shock caused by massive hemolysis.

The most considerable pathological changes were visible in the kidneys and the liver. In the kidneys necrosis of the epithelium of contorted tubules, hemoglobin casts and hydronephrosis were observed. The reaction to alkaline phosphatase activity decreased and that to acid phosphatase activity increased. In the liver, parenchymatous degeneration, foci of necrosis and hemorrhage were found. In the hepatocytes, large vesical lysosomes were visible. Parenchymatous degeneration of the myocardium, subepicardial and intramuscular hemorrhages into the heart and hemorrhages into the lung parenchyma were also found.

The most distinct changes were observed in the animals after administration of hemolytic saponins and their sapogenins. Parenchymatous degenerations of the liver and the kidneys were found out only in a few cases after administration by massive hemolysis.

EXPLANATION TO FIGURES

Fig. 1. The kidney of the animals (group II). Parenchymatous degeneration and necrosis of the epithelial cells of the contorted canaliculi, enlarged periglomerular space, single casts in the canaliculi. H+E staining. Magn. c. 400X.

- Fig. 2. The kidney of the animals (group III). The casts in the renal canaliculi, hydronephrosis. H+E staining. Magn. c. 400X.
- Fig. 3. The kidney of control group. Normal reaction to alkaline phosphatase. Magn. c. 200X.
- Fig. 4. The kidney of the animals (group II). Numerous hemoglobin casts with intense reaction to alkaline phosphatase (AP), weak reaction to AP in the epithelium of the renal canaliculi. Reaction to AP. Magn. c. 200X.
- Fig. 5. The kidney of the animals (group III). Numerous casts with intense reaction to AP.
- Fig. 6. The kidney of the animals (group I). Hemoglobin casts are visible in the canaliculi of the tube modullary layer. Reaction to AP. Magn. c. 150X.
- Fig. 7. The kidney of control group. Normal reaction to acid phosphatase (AcP). Magn. c. 150X.
- Fig. 8. The kidney of the animals (group III). Increased reaction, big vesicular cytolysosomes in the cells of the renal canaliculi. In one canaliculus a cast with intense reaction to AcP. Reaction to AcP. Magn. c. 400X.
- Fig. 9. The liver of the animals (group V). Extensive necrotic foci. H+E staining. Magn. c. 150X.
- Fig. 10. The liver of the animals (group IV). Extensive necrotic foci around the vena. H+E staining. Magn. c. 150X.
- Fig. 11. The liver of the animals (group II). Cell agglomerations with numerous big lipid drops. Oil red staining. Magn. c. 400X.
- Fig. 12. The liver of the animal (group V). Numerous hepatocytes contain lipids in abundance, groups of the cells nearly filled up with conglomerated lipid drops. Oil red staining. Magn. c. 400.
- Fig. 13. The liver of control group. Normal reaction to AcP. Magn. c. 150X.
- Fig. 14. The liver of the animals (group V). Increased reaction to AcP, in some cells diffuse reaction to AcP. Magn. c. 400X.
- Fig. 15. The liver of the animals (group III). Big, vesicular cytolysosomes, in some cells single lysosomes, diffuse reaction, or absence of reaction to AcP.
- Fig. 16. The lung of the animals (group IV). Hemorrhage into the pulmonary parenchyma. H+E staining. Magn. c. 100X.

MATERIAL AND METHOD

