

ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE - SKŁODOWSKA
LUBLIN—POLONIA

VOL. XIX, 36

SECTIO D

1964

Katedra i Zakład Histologii i Embriologii. Wydział Lekarski. Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: prof. dr med. Stanisław Grzycki

Krystyna CZERNY

Lizosomy w ostrym wodonerczu

Лизосомы острого гидронефроза

Lisosomes in Acute Hydronephrosis

W r. 1954 badania de Duve (2) pozwoliły na wykrycie nowych tworów wewnątrzkomórkowych. W procesie ultrawirowania mitochondriów okazało się, że organele te nie są jednorodne. Wyodrębniono frakcję „lekką”, bogatą w enzymy hydrolityczne, zwłaszcza w fosfatazę kwaśną oraz frakcję „ciężką” z wysoką aktywnością enzymów oddechowych. De Duve wysunął na tej podstawie hipotezę, że od mitochondriów właściwych należy odróżnić twory lżejsze — ziarnistości zawierające enzymy lityczne. Studia przy pomocy mikroskopu elektronowego (3, 4, 5) potwierdziły tę tezę. Opisano lizosomy, ziarnistości o średnicy ca 3 mikrony, otoczone w odróżnieniu od mitochondriów pojedynczą błoną mukolipoproteidową. Zauważono też, że wewnątrz lizosomów można spotkać twory blaszkowate, przypominające fragmenty mitochondriów albo ergastoplazmy. Te spostrzeżenia wskazały na rolę lizosomów w procesach lizy wewnątrzkomórkowej i obecnie można mówić o udziale lizosomów w trawieniu wewnątrzkomórkowym fizjologicznym i patologicznym, o związku lizosomów z jednej strony z odżywianiem tkanek (1), z drugiej — z niszczeniem jej strukturalnych składników, a nawet śmiercią komórki.

W świetle tych faktów zainteresowało nas zachowanie się lizosomów w komórkach kanalików nerki, badanych histochemicznie w różnych odstępach czasu od chwili podwiązania moczowodu. Może to rzucić pewne światło na stan komórek kanalików, zwłaszcza w pierwszych godzinach wodonercza.

METODYKA BADAŃ

Operacyjnie, w ogólnej narkozie eterowej podwiązano lewy moczowód u szczurów samców. Następnie, w różnych odstępach czasu od chwili operacji, pobierano materiał do badań. Zwierzęta podzielono na grupy, w każdej znalazły się 3 operowane szczury i 1 kontrolny. Wycinek nerki wielkości ca 25 mm² — utrwalano natychmiast po pobraniu w mieszaninie calcium-formol w ciągu

24 godz. w temp. 4°C, a następnie krajano na mikrotomie do zamrażania skrawki grubości 15 μ . Wykonywano na nich reakcję Gomoriego na fosfatę kwaśną (7) w pH 5,4, używając jako substratu glicerofosforanu sodu. Skrawki inkubowano w temp. 37°C w ciągu 45 min. Część tkanki po zatopieniu w parafinie barwiono kontrolnie hematoksyliną i eozyną, a w wypadku stwierdzenia zapalenia śródmiąższowego, preparatów nie brano pod uwagę dla zachowania jednolitości otrzymanych wyników.

BADANIA WŁASNE

A. Po 3 godz. od chwili podwiązania moczowodu aktywność fosfatazy kwaśnej w epicytach kłębuszków nerkowych nie uległa zmianie w porównaniu z obrazami kontrolnymi. Natomiast w komórkach kanalików głównych aktywność enzymu znacznie się zwiększyła (ryc. 1). Lizosomy były tu duże i liczne. Na preparatach barwionych hematoksyliną i eozyną nie obserwowano odchyłeń od normy.

B. Po dalszych 3 godz. od chwili operacji, aktywność fosfatazy kwaśnej w kłębuszkach nadal pozostała nie zmieniona. Ilość i wielkość lizosomów w komórkach kanalików głównych były takie same jak w grupie A. Zauważono po raz pierwszy rozszerzenie cewek zbiorczych.

C. W materiale pobranym po 12 godz. od chwili podwiązania moczowodu odczyn wykazujący aktywność fosfatazy kwaśnej nadal nie uległ zmianie w kłębuszkach nerkowych, natomiast aktywność enzymu w komórkach kanalików głównych zmniejszyła się nieco, choć nadal pozostała wyższa w porównaniu z obrazami kontrolnymi. Kanaliki były rozszerzone aż po kanalik główny. Nabłonek ich nie był spłaszczony.

D. Po 24 godz. od chwili podwiązania moczowodu aktywność fosfatazy kwaśnej w kłębuszkach nerkowych była taka sama, jak w preparatach kontrolnych. Ilość i wielkość lizosomów w komórkach kanalika głównego były podobne do spotykanych w 12 godzinnym wodonerczu. Nie wystąpiły także dalsze zmiany morfologiczne po zabarwieniu hematoksyliną i eozyną.

E. Po 3 dniach od chwili podwiązania moczowodu aktywność fosfatazy kwaśnej w kłębuszkach nerkowych pozostała nie zmieniona. W komórkach nabłonka kanalików głównych odczyn na aktywność fosfatazy kwaśnej przybrał charakter dyfuzyjny, ilość lizosomów uległa zmniejszeniu (ryc. 2). Pojedyncze lizosomy były znacznie powiększone. Kanaliki większości nefronów uległy poszerzeniu aż do kłębuszków, niektóre miały nabłonek spłaszczony. Obok tego spotykano kanaliki ze światłem morfologicznie nie zmienionym.

OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ

Na temat funkcji lizosomów istnieją różne teorie. Fakt, że zawierają one w swym wnętrzu enzymy hydrolityczne, a zwłaszcza fosfatazę kwaśną, pozwala przypuszczać, że biorą one udział w trawieniu wewnątrzkomórkowym fizjologicznym oraz w destrukcji tkanek (6). W tym świetle — zaobserwowane przez nas zwiększenia aktywności fosfatazy kwaśnej w komórkach kanalików nerki w pierwszych godzinach wodonercza można by uważać za wskaźnik degeneracji tkanek. Niezgodny z tym jest jednak fakt zmniejszenia aktywności fosfatazy kwaśnej w dłuższej trwającym wodonerczu. Na podstawie obserwowanego zmniejszenia ilości dużych lizosomów i pojawienia się odczynu dyfuzyjnego na fosfatazę kwaśną, można sądzić, że powiększone lizosomy pękają, a lityczna ich zawartość wylana do wnętrza komórki powoduje jej destrukcję. Nasuwa się wniosek o możliwości innej funkcji lizosomów w przebiegu wodonercza w związku z ich rolą w pinocytozie. Być może — w pierwszych godzinach, gdy komórki nie są jeszcze uszkodzone — dochodzi do „samoobronnego”, zwiększonego wchłaniania ze światła kanalików przez komórki nabłonka, co powoduje obserwowany przez nas wzrost ilości i wielkości lizosomów w grupach A i B.

Brak zmian aktywności fosfatazy kwaśnej w epicytach kłębuszków nerkowych obserwowany także po 3 dniach trwania wodonercza świadczyć może o tym, że zmiany destrukcyjne w kłębuszkach występują w późniejszych okresach w porównaniu z uszkodzeniem komórek nabłonka kanalików.

Wnioski

Ilość i wielkość lizosomów w komórkach kanalików nerki w ostrym doświadczalnym wodonerczu można uważać jako swego rodzaju wykładnik żywotności komórek. W komórkach mało uszkodzonych lizosomy są duże i liczne. Większa destrukcja łączy się ze zmniejszeniem ilości lizosomów i z pojawieniem się odczynu dyfuzyjnego na fosfatazę kwaśną.

PIŚMIENNICTWO

1. Barka T.: *J. Histochem. Cytochem.*, **10**, 231—232, 1962.
2. de Duve C., Pressman B. C., Gianetto R., Wattiaux R., Appelmans F.: *Biochem. J.*, **60**, 604—617, 1955.
3. Novikoff A. B.: *Biol. Bull.*, **117**, 385—395, 1959.
4. Novikoff A. B.: *Biology of Pyelonephritis*, Ed. E. Quinn and E. Kass, Little, Brown and Co., Boston 1960.

5. Novikoff A. B.: The Cell, Ed. Brachet J. and Mirsky A. E. Academic Press, New York and London 1961.
6. Novikoff A. B., Essner E.: Am. J. Med. 29, 102—131, 1961.
7. Vorbrodt A.: Fol. Morphol. 4, 271—280, 1956.

РЕЗЮМЕ

Лизосомы наблюдались в клетках почек по экспериментальной подвязке мочеточника.

Исследуя гистохимические реакции на кислую фосфатазу, автор отмечает изменение активности энзимов. Количество и размер лизосомов в начале опыта увеличивалось, а в дальнейшем наблюдалось их уменьшение и реакция на кислую фосфатазу имела диффузный характер.

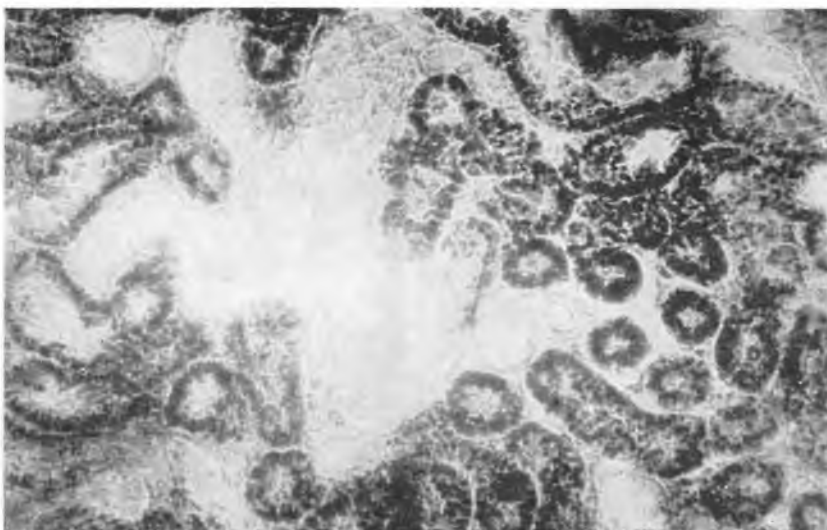
Рис. 1. Почка через три часа после перевязки мочеточника. Реакция на кислую фосфатазу. Видны большие и многочисленные лизосомы. Увелич. 250 X.

Рис. 2. Почка через три дня после перевязки мочеточника. Реакция на кислую фосфатазу имеет диффузный характер. Увелич 250 X.

SUMMARY

Lisosomes were observed in cells of the kidney after experimental ligation of the ureter. Changes in the activity of enzymes were observed after histochemical reaction on acid phosphatase. At first the number and size of lisosomes increased, later some lisosomes and the activity of the acid phosphatase became diffused.

Pracę otrzymano 15 II 1964.



Ryc. 1. Nerka po 3 godz. od chwili podwiązania moczowodu. Odczyn na fosfatazę kwaśną. Widoczne duże i liczne lizosomy. Pow. 250 ×
The kidney 3 hours after ligation of the ureter. The activity of the acid phosphatase is seen. Large and numerous lisosomes to be observed. Magn. 250 ×



Ryc. 2. Nerka po 3 dniach od chwili podwiązania moczowodu. Odczyn na fosfatazę kwaśną ma charakter dyfuzyjny. Pow. 250 ×
The kidney 3 days after ligation of the ureter. The activity of the acid phosphatase is characteristically diffuse. Magn. 250 ×

