

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

Krystyna CZERNY, Ewa KIFER-WYSOCKA,
Jadwiga ROMANOWSKA-SARLEJ, Ewa KURNICKA

Badania histochemiczne i histologiczne nerki szczura białego po doświadczalnym podawaniu Dexamethasonu

Histochemical and Histological Examinations of the White Rat's Kidney After
Experimental Administration of Dexamethasone

Zasadniczym motywem stosowania w lecznictwie glikokortykosteroidów jest ich wielokierunkowa aktywność farmakologiczna, nie związana bezpośrednio z czynnością hormonalną (5, 6). Dexamethason różni się od naturalnych związków tej grupy, jakimi są kortyzon i hydrokortyzon, obecnością fluoru w pozycji 9 i grupy metylowej w pozycji 16 układu steroidowego. Wykazuje on tylko szczątkowe działanie mineralokortykotropowe. Prawie nie zatrzymuje jonów sodu i wody w ustroju, słabo wpływa na wydalanie potasu. Jednakże długotrwałe stosowanie Dexamethasonu powoduje powstawanie obrzęków i nadciśnienia tętniczego (9).

Występowanie tych zjawisk oraz niewątpliwy udział glikokortykoidów w prawidłowym funkcjonowaniu nerki to czynniki, które skłoniły nas do podjęcia w tym kierunku badań. Jako modelu doświadczalnego użyto nerki szczura białego, której budowa i czynności fizjologiczne pozwalają na porównawcze wyprowadzenie wniosków odnoszących się do ewentualnych zmian zachodzących po podaniu tego preparatu w nerce człowieka (2, 3). Obserwacje obecne powinny pozwolić na ocenę możliwości stosowania Dexamethasonu u chorych z niewydolnością nerek.

MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Doświadczenie przeprowadzono na szczurach białych szczepu Wistar z hodowli wsobnej Zakładu Histologii i Embriologii AM w Lublinie, samcach, o masie ciała 250—270 g. Dexamethason produkcji „Polfa” (Pabianice) podawano w zawiesinie wodnej, sondą dożołądkowo, w dawce 10 mg/kg. Wyodrębniono 3 grupy doświadczalne i 1 kontrolną, która otrzymywała sondą wodę destylowaną. W każdej grupie znajdowały się 3 zwierzęta.

Grupa I doświadczalna — preparat podano jednorazowo.

Grupa II doświadczalna — preparat podano 2-krotnie co 24 godz.

Grupa III doświadczalna — preparat podano 7-krotnie co 24 godz.

Materiał do badań (lewą nerkę) pobierano zawsze po 24 godz. od chwili ostatniego podania preparatu. Wycinki utrwalano w płynie Bakera, w 10% formalinie obojętnej, w płynie według Carnoya. Zgodnie z klasycznie stosowaną metodyką (12), wykonano odczyny na aktywność fosfatazy kwaśnej, fosfatazy zasadowej według Gomoriego, odczyn PAS według McManusa oraz barwienie hematoksyliną i eozyną.

WYNIKI BADAŃ

Grupa I doświadczalna (jednorazowe podanie Dexamethasonu)

Na preparatach przeglądowych, barwionych hematoksyliną i eozyną, nie wykazano zmian morfologicznych w obrębie kłębków i kanalików nerkowych (ryc. 1). Wystąpiło tylko nieznaczne przekrwienie miąższu nerki i poszerzenie światła torebki Bowmana. Intensywność odczynu PAS w rąbku szczoteczkowym i w błonach podstawowych kanalików i naczyń była prawidłowa (ryc. 2). Obserwowano silną aktywność fosfatazy zasadowej (ryc. 3) i gruboziarnisty odczyn po wykonaniu reakcji na aktywność fosfatazy kwaśnej (ryc. 4).

Grupa II doświadczalna (2-krotne podanie Dexamethasonu)

Po zabarwieniu hematoksyliną i eozyną obserwowano w miąższu nerki ogniskowe zmiany morfologiczne. Naczynia krwionośne były szerokie, wypełnione krwią (ryc. 5). Barwienie PAS uwidocznilo znaczne wydłużenie rąbka szczoteczkowego (ryc. 6). Intensywną aktywność w rąbku szczoteczkowym wykazywała fosfataza zasadowa (ryc. 7). Odczyn na aktywność fosfatazy kwaśnej był silny, miał postać gruboziarnistą (ryc. 8).

Grupa III doświadczalna (7-krotne podanie Dexamethasonu)

Na wszystkich badanych preparatach występowały znaczne zmiany morfologiczne. Obserwowano przekrwienie miąższu nerki i wynaczynienia. Światło torebek Bowmana i kanalików było poszerzone, komórki nabłonka nefronów wykazywały cechy przyćmienia miąższowego. W świetle kanalików spotykano złogi o charakterze ziarnistym i homogennym (ryc. 9). Po wykonaniu reakcji PAS obserwowano znaczne pogrubienie błon podstawowych kanalików, natomiast rąbek szczoteczkowy kanalików był słabo wybarwiony (ryc. 10). Ogniskowo wystąpiło znaczne zmniejszenie aktywności fosfatazy zasadowej (ryc. 11). Odczyn na aktywność fosfatazy kwaśnej miał postać gruboziarnistą lub dyfuzyjną (ryc. 12).

DYSKUSJA I WNIOSKI

Stosowany w leczeniu Dexamethason okazał się preparatem mniej toksycznym od kortyzonu (8), wykazując znacznie silniejsze działanie przeciwzapalne (7). Podawany jest wtedy, gdy inne kortykoidy powodują zwiększenie wagi ciała, zaburzenia psychiczne i obrzęki (11). Obecność atomu fluoru w pozycji 9 układu steroidowego wpływa na nasilenie działania przeciwalergicznego, natomiast obecność grupy metylowej w pozycji 16 decyduje o silniejszej aktywności, szybszym i dłużej utrzymującym się działaniu. Dexamethason jest najsilniejszym z leków glikokortykosteroidowych, wykazuje wielokrotnie intensywniejsze działanie immunosupresyjne (7). Badania *in vitro* wykazały szczególną obfitość receptorów dla Dexamethasonu w przednim płacie przysadki mózgowej. Wyjaśnia to silnie hamujący wpływ tego steroidu na wydzielanie kortykotropiny (6). Specyficzna zdolność hamowania czynności kory nadnerczy wykorzystana została w diagnostyce endokrynologicznej i stała się przyczyną licznych prac doświadczalnych mających na celu poznanie mechanizmu funkcjonowania narządów, zwłaszcza o charakterze gruczołowym (4, 10).

Do badań obecnie przeprowadzonych wybrano odczyny histochemiczne, przy pomocy których można określić stan struktur nefronu. Aktywność fosfataz niespecyficznych jest charakterystyczna dla elementów miąższu nerki i pozwala ocenić zarówno aparat lizosomalny (fosfataza kwaśna), jak i błony komórkowe (fosfataza zasadowa). Również odczyn PAS wykazuje precyzyjnie zmiany grubości błon podstawowych nefronów i naczyń oraz stan rąbka szczoteczkowego kanalika proksymalnego, gdzie zachodzą najintensywniejsze procesy wchłaniania zwrotnego. W naszych badaniach, prowadzonych w krótkim czasie po podaniu Dexamethasonu (24 godz. od chwili ekspozycji), stwierdzono nieznaczne zaburzenia w aktywności hydrolaz już w grupie zwierząt, którym preparat podano jednorazowo i 2-krotnie. Na podstawie badań innych autorów (4), którzy obserwowali aktywność hydrolaz po upływie 2 tygodni od chwili podania Dexamethasonu, można określić opisane przez nas zmiany jako odwracalne. Inne natomiast zjawiska obserwuje się w miąższu nerki po tygodniu (7-krotnego) codziennego podawania preparatu. Obok przekrwienia występują wtedy liczne wynaczynienia, rąbek szczoteczkowy kanalików ulega destrukcji, co widoczne jest zarówno po wykonaniu odczynu PAS, jak i podczas badania aktywności fosfatazy zasadowej. Również dyfuzja produktów reakcji określającej aktywność fosfatazy kwaśnej świadczy o nieodwracalnym uszkodzeniu lizosomów. Obserwowane zmiany dotyczą przede wszystkim kanalików proksymalnych i wiążą się prawdopodobnie z resorpcją wtórną produktów przemiany preparatu (1).

Jako najważniejszy wniosek, wynikający z uzyskanych rezultatów badań, można uważać stwierdzenie, że jednorazowe podanie Dexamethasonu, nawet w maksymalnej dawce, nie ma ujemnego wpływu na nerkę.

PIŚMIENNICTWO

1. Bell G. H. i wsp.: Textbook of Physiology. Churchill—Livingstone, Dundee 1980.
2. Ewy Z.: Zarys fizjologii zwierząt. PAN, Warszawa 1980.
3. Krzymowski T.: Fizjologia zwierząt. PWRiL, Warszawa 1981.
4. Nussdorfer, G. G. i wsp.: Effects of ACTH and Dexamethasone on the *zona glomerulosa* of the Rat Adrenal Cortex: An Ultrastructural Stereologic Study. *Acta Endocr.* **85**, 608, 1977.
5. Pawełczyk E.: Chemia leków. PZWL, Warszawa 1986.
6. Pawlikowski M.: Leczenie hormonami i pochodnymi hormonów. PZWL, Warszawa 1988.
7. Pellegrini A., Ricciardi M. P.: Histological and Histochemical Observations on the Testis and Epidydimis of the Albino Rat Treated with ACTH and Dexamethasone. *Int. J. Tiss. Res.* **5**, (1), 41, 1983.
8. Podlewski I. K., Chwaliłogowska-Podlowska A.: Leki współczesnej terapii. PZWL, Warszawa 1987.
9. Ricciardi M. P. i wsp.: Morphological and Histogemical Study on the Adrenal Cortex of the Dexamethasone-Treated Albino Rat. *Int. J. Tiss. Res.* **6**, (4), 333, 1984.
10. Ricciardi M. P. i wsp.: Morphofunctional Research on the Effects of Steroid-Stimulating and -Inhibiting Drugs on the Major Salivary Glands of Rats. *Z. mikrosk.-anat. Forsch. (Leipzig)* **103** (2), 257, 1989.
11. Tatoń J.: Kliniczna farmakologia niepożądanego działania leków. PZWL, Warszawa 1985.
12. Zawistowski S.: Technika histologiczna. PZWL, Warszawa 1983.

Otrzymano 1991.05.16.

OBJAŚNIENIA RYCIN

Ryc. 1. Grupa I doświadczalna. Jednorazowe podanie Dexamethasonu. Barwienie hematoksyliną i eoźyną. Pow. 200 ×.

Ryc. 2. Grupa I doświadczalna. Jednorazowe podanie Dexamethasonu. Odczyn PAS. Pow. 200 ×.

Ryc. 3. Grupa I doświadczalna. Jednorazowe podanie Dexamethasonu. Odczyn na aktywność fosfatazy zasadowej. Pow. 200 ×.

Ryc. 4. Grupa I doświadczalna. Jednorazowe podanie Dexamethasonu. Odczyn na aktywność fosfatazy kwaśnej. Pow. 200 ×.

Ryc. 5. Grupa II doświadczalna. 2-krotne podanie Dexamethasonu. Barwienie hematoksyliną i eoźyną. Pow. 200 ×.

Ryc. 6. Grupa II doświadczalna. 2-krotne podanie Dexamethasonu. Odczyn PAS. Pow. 200 ×.

Ryc. 7. Grupa II doświadczalna. 2-krotne podanie Dexamethasonu. Odczyn na aktywność fosfatazy zasadowej. Pow. 200 ×.

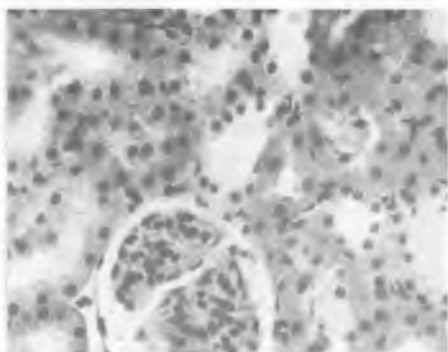
Ryc. 8. Grupa II doświadczalna. 2-krotne podanie Dexamethasonu. Odczyn na aktywność fosfatazy kwaśnej. Pow. 200 ×.

Ryc. 9. Grupa III doświadczalna. 7-krotne podanie Dexamethasonu. Barwienie hematoksyliną i eoźyną. Pow. 200 ×.

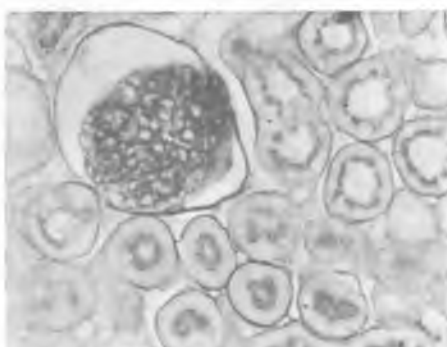
Ryc. 10. Grupa III doświadczalna. 7-krotne podanie Dexamethasonu. Odczyn PAS. Pow. 200 ×.

Ryc. 11. Grupa III doświadczalna. 7-krotne podanie Dexamethasonu. Odczyn na aktywność fosfatazy zasadowej. Pow. 200 ×.

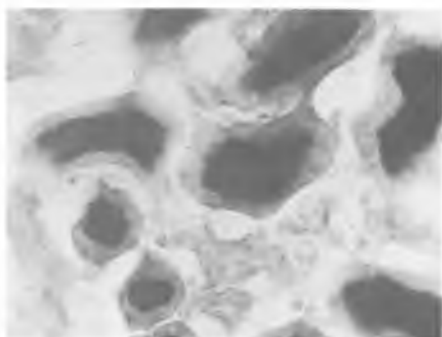
Ryc. 12. Grupa III doświadczalna. 7-krotne podanie Dexamethasonu. Odczyn na aktywność fosfatazy kwaśnej. Pow. 200 ×.



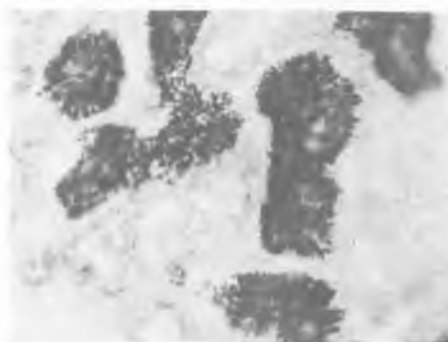
Ryc. 1



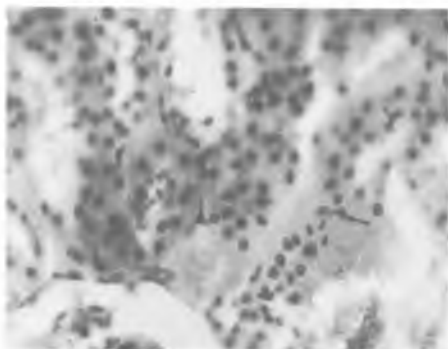
Ryc. 2



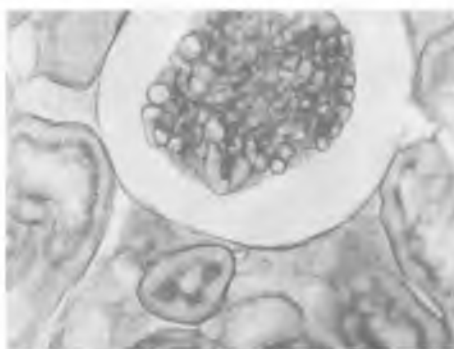
Ryc. 3



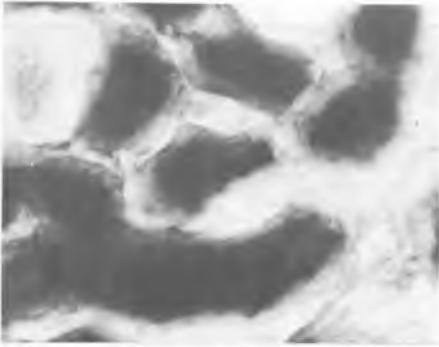
Ryc. 4



Ryc. 5



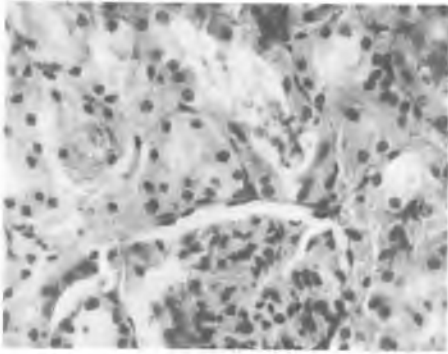
Ryc. 6



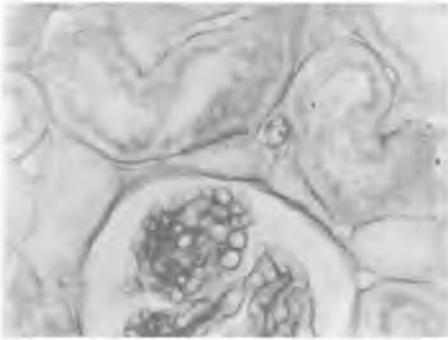
Ryc. 7



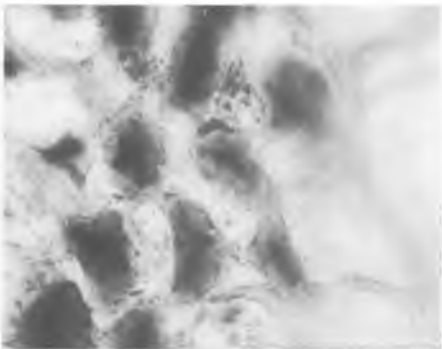
Ryc. 8



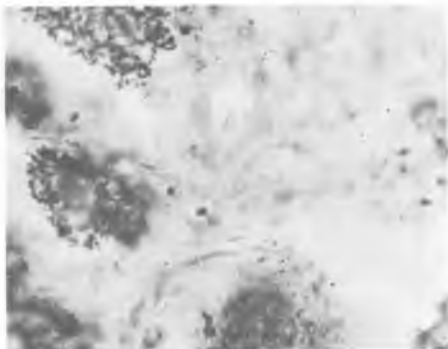
Ryc. 9



Ryc. 10



Ryc. 11



Ryc. 12

SUMMARY

Kidneys of the rats which had been intragastrically administered Dexamethasone (10 mg/kg), were examined. Observations were carried out after a single and twice repeated application of the preparation, as well as after 7 days of everyday administration. It was found, on the basis of histological and histochemical observations (reaction to alkaline phosphatase activity, reaction to acid phosphatase activity, PAS-method staining), that both single and twice administration of Dexamethasone do not cause the damage of the kidney parenchyma, whereas after 7 days of everyday application of the preparation irreversible changes can be observed.

EXPLANATION TO FIGURES

Fig. 1. Experimental group I. A single application of Dexamethasone. Staining with hematoxylin and eosin. Magn. 200 ×.

Fig. 2. Experimental group I. A single application of Dexamethasone. PAS-method staining. Magn. 200 ×.

Fig. 3. Experimental group I. A single application of Dexamethasone. Alkaline phosphatase activity. Magn. 200 ×.

Fig. 4. Experimental group I. A single application of Dexamethasone. Acid phosphatase activity. Magn. 200 ×.

Fig. 5. Experimental group II. A twice repeated application of Dexamethasone. Staining with hematoxylin and eosin. Magn. 200 ×.

Fig. 6. Experimental group II. A twice repeated application of Dexamethasone. PAS-method staining. Magn. 200 ×.

Fig. 7. Experimental group II. A twice repeated application of Dexamethasone. Alkaline phosphatase activity. Magn. 200 ×.

Fig. 8. Experimental group II. A twice repeated application of Dexamethasone. Acid phosphatase activity. Magn. 200 ×.

Fig. 9. Experimental group III. 7 days of everyday application of Dexamethasone. Staining with hematoxylin and eosin. Magn. 200 ×.

Fig. 10. Experimental group III. 7 days of everyday application of Dexamethasone. PAS-method staining. Magn. 200 ×.

Fig. 11. Experimental group III. 7 days of everyday application of Dexamethasone. Alkaline phosphatase activity. Magn. 200 ×.

Fig. 12. Experimental group III. 7 days of everyday application of Dexamethasone. Acid phosphatase activity. Magn. 200 ×.

