

Katedra i Zakład Histologii i Embriologii. Akademia Medyczna w Lublinie  
Kierownik: prof. dr hab. n. med. Irena Królikowska-Prasat

Maria MATYSEK, Tamara MAJEWSKA,  
Halina NIESPODZIEWAŃSKA

### Wpływ Furosemidu na odczyny histochemiczne w nerce

Влияние Фуросемида на гистохимические реакции в почке

The Influence of Furosemid on Histochemical Reactions in the Kidneys

Liczne publikacje naukowe donoszą o stosowaniu Furosemidu w różnych jednostkach chorobowych, co świadczy o popularności tego leku (3, 4). Z uwagi na to, że ok. 40% Furosemidu podanego *per os* wydala się przez przewód pokarmowy i aż 60% przez nerki (1), wydało się celowe zbadanie morfologiczne nerek, tak znacznie obciążonych filtracją leku. Brak danych doświadczalnych o wpływie Furosemidu na układ enzymatyczny nerek, być może, dopełnią niniejsze badania topochemiczne wybranych markerów komórkowych, których występowanie lub dyslokacje w określonych strukturach nerki jednocześnie wyznaczają stan czynnościowy nefronów.

#### MATERIAŁ I METODYKA BADAŃ

Badania przeprowadzono na 13 szczurach białych, samicach rasy Wistar o średnim ciężarze 300 g. Zwierzęta podzielono na dwie grupy doświadczalne po 5 szczurów każda i 3 szczury stanowiły grupę kontrolną. Stosowano Furosemid produkcji Stargardzkich Zakładów Farmaceutycznych „Polfa”. Zwierzętom grupy I doświadczalnej podawano na czczo sondą dożołądkowo zawiesinę wodną Furosemidu w dawce 0,835 g/kg c.c. przez 7 dni. Po tym czasie zwierzęta przebywały w klatkach przez następne 7 dni bez podawania leku, po czym usypiano je i pobierano nerki do badań. Zwierzęta grupy II doświadczalnej otrzymywały również przez 7 dni sondą dożołądkowo taką samą dawkę — 0,835 g/kg c.c. Furosemidu. Bezpośrednio po terapii pobierano nerki tej grupy zwierząt do badań histochemicznych.

Preparaty z nerek przygotowano zgodnie ze stosowaną techniką barwienia według metody PAS oraz barwiono hematoksyliną i eozyną. Wykonano odczyny na aktywność fosfataz: kwaśnej (Fk) i zasadowej (Fz) według Gomoriego.

## BADANIA WŁASNE

Przeładowe badania preparatów nerki po hematoksylinie i eozyinie w grupach zwierząt otrzymujących Furosemid uwidoczniły bardziej intensywne kwasochłonność komórek nabłonka cewek krętych pierwszego i drugiego rzędu w porównaniu z kontrolą (ryc. 1, 2 i 3). Ponadto w obu grupach doświadczalnych badanie to ujawniło wyraźnie rozszerzone naczynia krwionośne. Wokół niektórych kanalików nerkowych pojawiły się leukocyty.

Substancje PAS-dodatnie u zwierząt doświadczalnych w porównaniu z grupą kontrolną różniły się. W grupie I odczyn był słabszy, natomiast wzrost obserwowano w grupie II doświadczalnej (ryc. 4, 5 i 6).

Reakcja na aktywność Fk w kanalikach głównych bezpośrednio po 7 dniach podawania leku była słabsza niż u zwierząt kontrolnych (ryc. 7, 9). Natomiast po otrzymaniu Furosemidu i 7-dniowym odpoczynku znacznie zwiększyła się, wtedy odczyn był bardzo intensywny, a aktywne ziarnistości wypełniały całe komórki nabłonka kanalików głównych, zacierając ich światło (ryc. 8).

Reakcja na Fz u zwierząt kontrolnych i otrzymujących lek przez 7 dni kształtowała się podobnie. W nerce szczurów grupy I doświadczalnej rąbek szczoteczkowy nefronów wykazywał zmniejszoną reakcję na Fz, w cytoplazmie komórek zaś obserwowano dość mocny odczyn dyfuzyjny (ryc. 10, 11 i 12).

## OMÓWIENIE WYNIKÓW I WNIOSKI

Na podstawie uzyskanych obserwacji można wnioskować, że wzmożona diureza, wywołana Furosemidem, zmienia pewne procesy cytofizjologiczne w nerkach. Stosowana reakcja na czynność Fz jest szczególnie ważna w ocenie stanów fizjologicznych i patologicznych narządów bogatych w ten enzym, między innymi nerki (6). Ogólnie przyjmuje się, że w stanach patologicznych zanika aktywność enzymu w takich narządach, w których Fz spełnia istotną funkcję. Natomiast jej czynność pojawia się w narządach, w których w warunkach prawidłowych aktywność jest bardzo słaba (5). Zatem obserwowane znaczne zmniejszenie aktywności Fz w rąbku szczoteczkowym kanalików krętych pierwszego rzędu po 7 dniach od zakończenia podawania leku świadczy o upośledzeniu procesów resorbcyjnych nefronów. Wiadomo również, że Fz jest enzymem uczestniczącym w resorbcji zwrotnej glukozy w cewkach krętych pierwszego rzędu (5). A więc wyniki niniejszych badań sugerują równoczesne zaburzenia w gospodarce węglowodanowej ustroju. Potwierdzeniem tego przypuszczenia były istotne zmiany w odczynie na wielocukry (PAS). Mianowicie u zwierząt po 7 dniach od zaprzestania podawania Furosemidu wystąpiła w niektórych kanalikach głównych nefronów wyraźnie osłabiona reakcja na węglowodany. Kanaliki te prawdopodobnie stanowiły „czynnościowe strefy”,

w których komórki specyficznie odpowiedziały na podany lek obniżeniem intensywności badanego odczynu w rąbku szczoteczkowym. Natomiast tuż po zaprzestaniu podawania leku obserwowano znaczny wzrost reakcji PAS-pozytywnej w komórkach kanalików głównych nerki. Stwierdzone dyslokacje oraz zmiany poziomu aktywności reakcji na Fz i polisacharydy w nerkach po terapii Furosemidem sugerują wyraźne i długotrwałe zaburzenia w gospodarce węglowodanowej komórki. Kierunek i natężenie tych zmian zależą od czasu działania leku i okresu trwania doświadczenia, w którym pobrano materiał do badania.

Reakcję na Fk można traktować jako wyznacznik lizosomów oraz ich struktur pochodnych. Ponieważ fosfataza ta występuje łącznie z innymi kwaśnymi hydrolazami lizosomalnymi, jej rozmieszczenie w komórce dostarcza informacji o stanie układu wewnętrznego trawienia oraz pozwala wnioskować o stosunku lizosomów do innych struktur wewnątrzkomórkowych. Wiadomo bowiem, że w wielu stanach patologicznych komórek, jak procesy zwyrodnieniowe, wzajemna zależność rozmieszczenia między lizosomami i zawartymi w nich hydrolazami a innymi strukturami śródplazmatycznymi ulega zaburzeniu (2). W przeprowadzonym doświadczeniu, badając wpływ Furosemidu na aktywność Fk, zauważono, że jest ona nasiloną po 7-dniowej przerwie w podawaniu leku. Wtedy odczyn był bardzo intensywny. Natomiast bezpośrednio po 7-dniowym okresie podawania leku nastąpił nieznaczny wzrost w odczynie na Fk.

Na podstawie uzyskanych obserwacji można wnioskować, że podawanie Furosemidu w określonej dawce przez 7 dni powodowało długotrwałe zmiany w aktywności niektórych enzymów komórkowych nerki.

#### PIŚMIENNICTWO

1. Axmann G.: Untersuchungen zum Mechanismus der Wirkung von Furosemid auf Transepithelialen Transport von Natrium, Inaugural — Dissertation zur Erlangungen des Doktorgrades der Naturwissenschaften. Frankfurt am Main 1978.
2. Barka T.: Cellular Localisation of Acid Phosphatase Activity. *J. Histochem. Cytochem.* **10**, 231, 1962.
3. Dyk T.: Duże dawki furosemidu w przypadku opornych obrzęków. *Wiad. Lek.* **4** (27), 347, 1974.
4. Korzon M., Mrygłodowicz A.: Zastosowanie furosemidu w leczeniu ostrej niewydolności nerek w przebiegu zapalenia kłębków nerkowych. *Wiad. Lek.* **5** (27), 449, 1974.
5. Mekenna H. J. i wsp.: Comparison of Human Alkaline Phosphataseiscenzymes. *Biochem. J.* **3** (181), 67, 1979.
6. Purzyc L.: Fosfataza alkaliczna z tkanek ludzkich. *Post. Hig. Med. Dośw.* **6** (39), 677, 1985.

Otrzymano 1988.11.02.

## OBJAŚNIENIA RYCIN

- Ryc. 1. Grupa kontrolna. Nerka szczura — barwienie hematoksyliną i eozyną. Pow. ok. 100 ×.  
 Ryc. 2. Grupa I doświadczalna. Nerka szczura — barwienie hematoksyliną i eozyną. Pow. ok. 100 ×.  
 Ryc. 3. Grupa II doświadczalna. Nerka szczura — barwienie hematoksyliną i eozyną. Pow. ok. 100 ×.  
 Ryc. 4. Grupa kontrolna. Nerka szczura — reakcja PAS. Pow. ok. 100 ×.  
 Ryc. 5. Grupa I doświadczalna. Nerka szczura — reakcja PAS. Pow. ok. 100 ×.  
 Ryc. 6. Grupa II doświadczalna. Nerka szczura — reakcja PAS. Pow. ok. 100 ×.  
 Ryc. 7. Grupa kontrolna. Nerka szczura — odczyn na Fk. Pow. ok. 100 ×.  
 Ryc. 8. Grupa I doświadczalna. Nerka szczura — odczyn na Fk. Pow. ok. 100 ×.  
 Ryc. 9. Grupa II doświadczalna. Nerka szczura — odczyn na Fk. Pow. ok. 100 ×.  
 Ryc. 10. Grupa kontrolna. Nerka szczura — odczyn na Fz. Pow. ok. 100 ×.  
 Ryc. 11. Grupa I doświadczalna. Nerka szczura — odczyn na Fz. Pow. ok. 100 ×.  
 Ryc. 12. Grupa II doświadczalna. Nerka szczura — odczyn na Fz. Pow. ok. 100 ×.

## РЕЗЮМЕ

Гистохимические исследования провели на срезах ткани почек белых крыс, которым дожелудочно подавали Фуросемид в дозе 0,835 г/кг м.т. на протяжении семи дней. Материал для исследования брали после семидневного перерыва от окончания подачи лекарства (первая группа), а также непосредственно после терапии (вторая группа). Результаты исследований сугеруют долговременные изменения активности таких клеточных ферментов как щелочная фосфатаза, кислая фосфатаза и сахараиды. Интенсивность реакции на щелочную фосфатазу, а также полисахариды значительно уменьшалась в первой опытной группе. Наблюдалось уменьшение реакции на кислую фосфатазу непосредственно после окончания подачи лекарства. Вместо того после подачи Фуросемида и семидневном перерыве реакция на кислую фосфатазу явилась очень интенсивной.

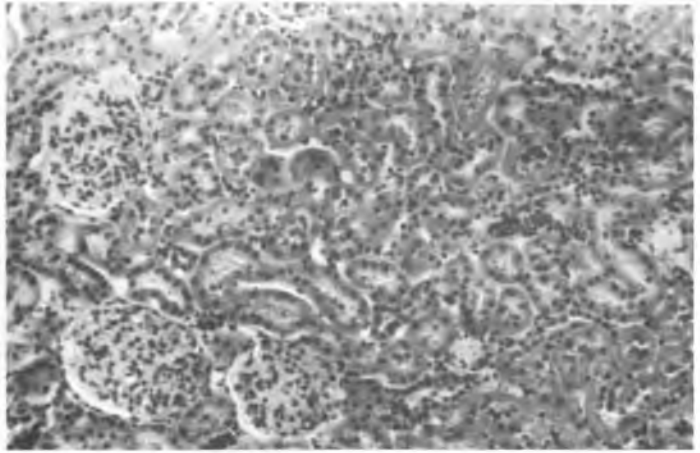
## SUMMARY

Histochemical studies were conducted on liver sections of white rats, which were given Furosemide at a dose of 0.835 g/kg of body weight into the stomach for 7 days. The material for examination was collected after a 7-day interval following the last dose of the drug (group I) and immediately after the drug therapy (group II). The results suggest long-lasting changes in the activity of cellular enzymes like Fz and Fk and in saccharides. The intensity of reaction to Fz and polysaccharides decreased considerably in group I. A decrease of Fk reaction was observed immediately after the completion of drug therapy. However, after Furosemide treatment and a 7-day interval the reaction to Fk was very intense.

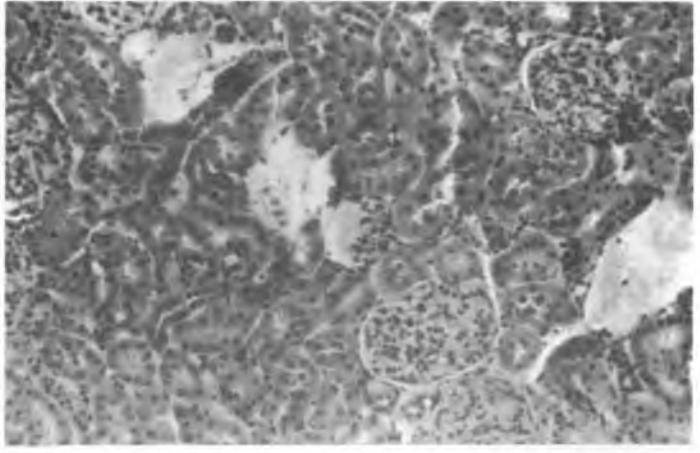
## EXPLANATION TO FIGURES

- Fig. 1. Control group. Kidney of rat colouring with hematoxylin — eosine. Magn. ca 100 ×.  
 Fig. 2. Experimental group I. Kidney of rat colouring with hematoxylin — eosine. Magn. ca 100 ×.  
 Fig. 3. Experimental group II. Kidney of rat colouring with hematoxylin — eosine. Magn. ca 100 ×.

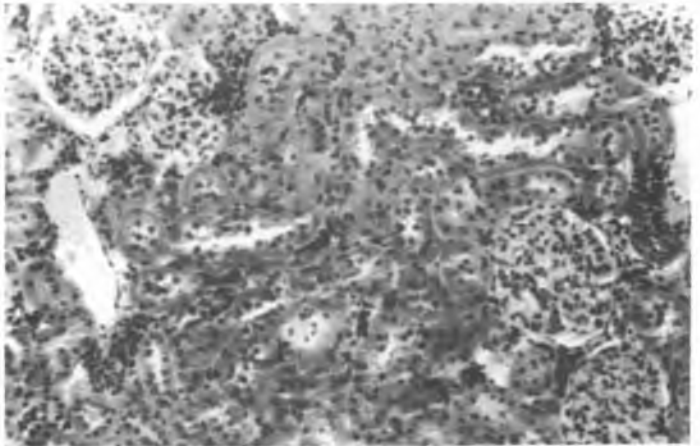
Ryc. 1

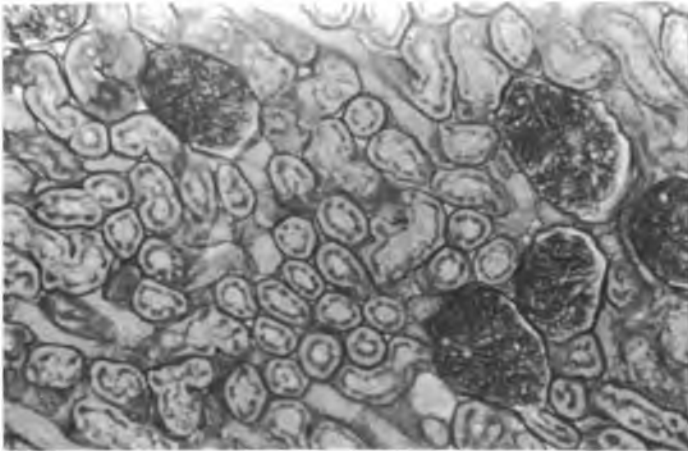


Ryc. 2

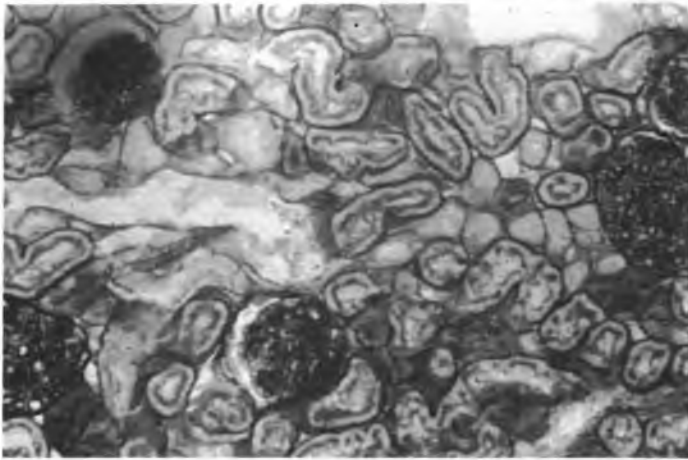


Ryc. 3

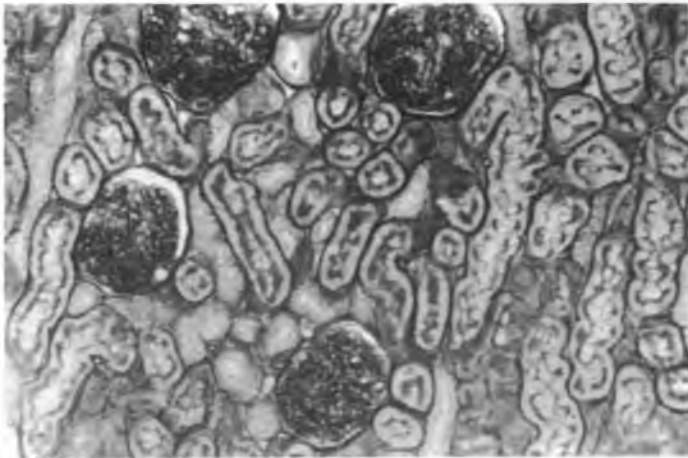




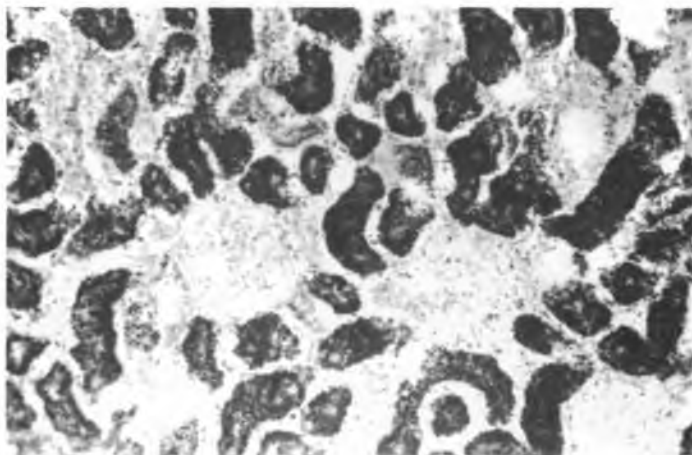
Ryc. 4



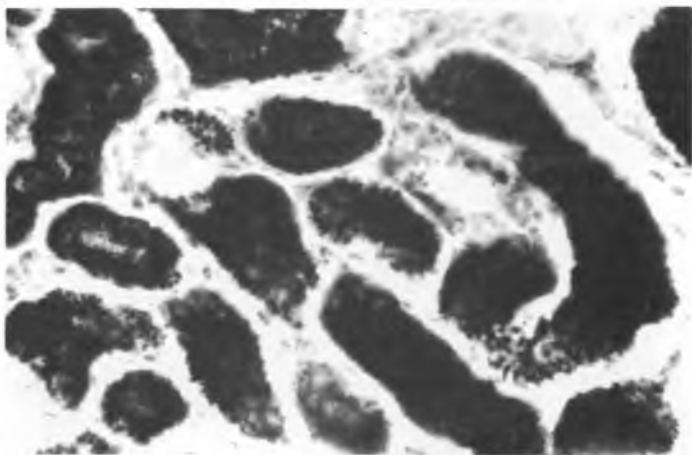
Ryc. 5



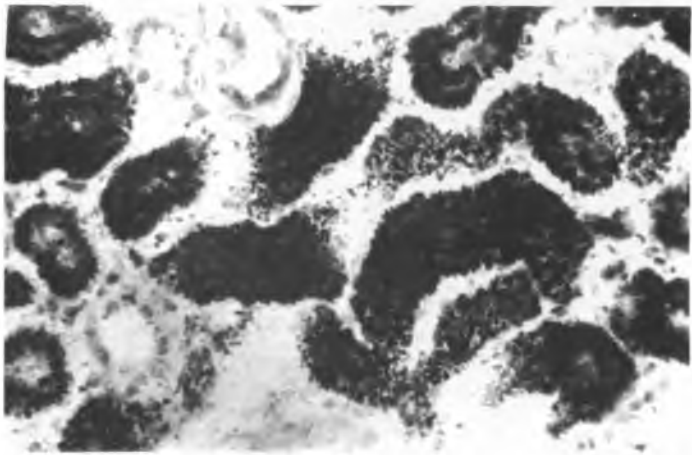
Ryc. 6



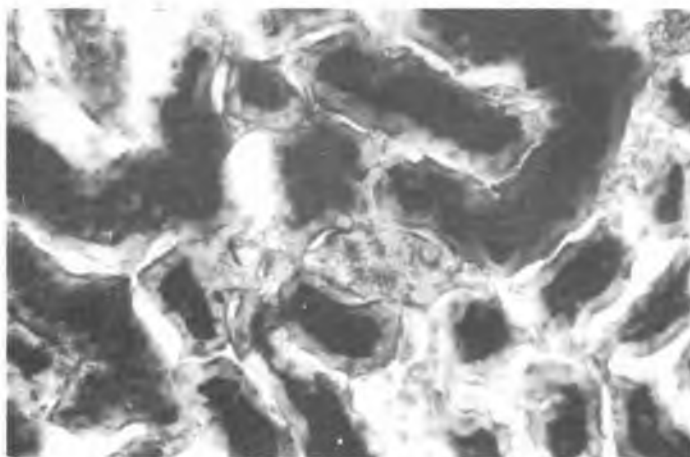
Ryc. 7



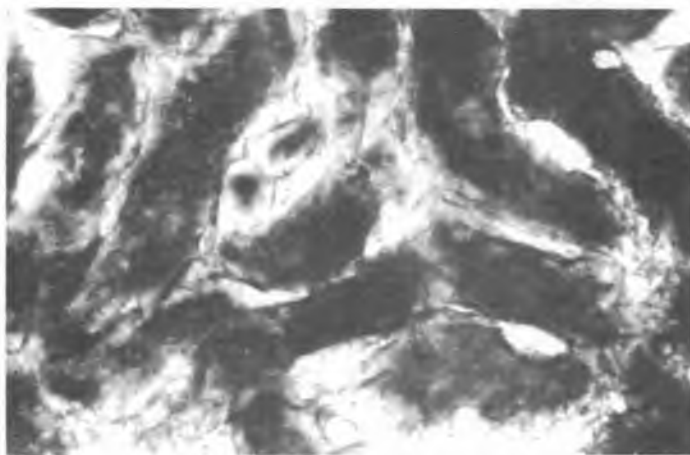
Ryc. 8



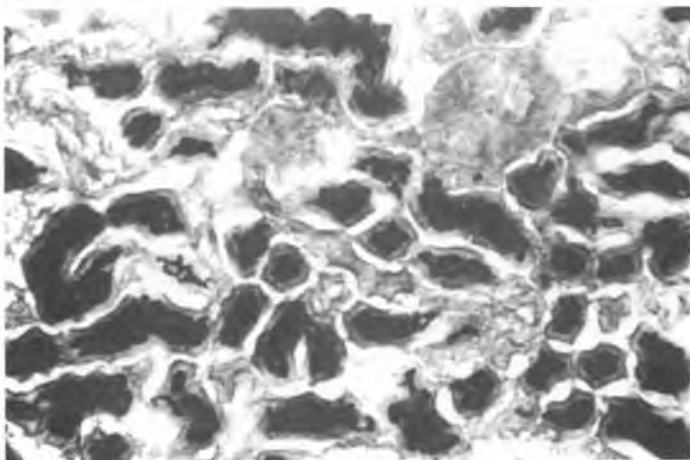
Ryc. 9



Ryc. 10



Ryc. 11



Ryc. 12



- Fig. 4. Control group. Reaction to glicogen in kidney of rat. Magn. ca 100 × .
- Fig. 5. Reaction to glicogen in kidney of experimental rat, group I. Magn. ca 100 × .
- Fig. 6. Reaction to glicogen in kidney of experimental rat, group II. Magn. ca 100 × .
- Fig. 7. Reaction to acid phosphatase activity in control group. Magn. ca 100 × .
- Fig. 8. Kidney of experimental rat, group I. Reaction to acid phosphatase activity. Magn. ca 100 × .
- Fig. 9. Kidney of the experimental rat, group II. Reaction to acid phosphatase activity. Magn. ca 100 × .
- Fig. 10. Reaction to alkaline phosphatase activity in control group. Magn. ca 100 × .
- Fig. 11. Kidney of the experimental rat, group I. Reaction to alkaline phosphatase activity. Magn. ca 100 × .
- Fig. 12. Kidney of the experimental rat, group II. Reaction to alkaline phosphatase activity. Magn. ca 100 × .

