

Katedra i Zakład Histologii i Embriologii Akademii Medycznej
w Lublinie

Kierownik: prof. dr hab. Irena Królikowska-Prasał

TAMARA MAJEWSKA, DOROTA NIESPODZIEWAŃSKA-
-MIERZYŃSKA, RAFAŁ STEC

*Histoenzymatyczne badania nerki szczura po doświadczalnym
podaniu Rocephinu i Furosemidu*

Histochemical Examination on the Rat Kidney Following Experimental Administration
of Rocephin and Furosemid

Rocephin (Ceftriakson) jest przedstawicielem cefalosporyn III generacji. Jest to grupa leków, którą charakteryzuje szerokie spektrum działania przeciwbakteryjnego, dlatego też stosowana jest szczególnie wtedy, gdy nie jest znany czynnik bakteryjny wywołujący zakażenie.

Furosemid, jako lek silnie moczopędny, stosowany jest głównie w leczeniu stanów, w których niezbędne jest zmniejszenie objętości krążących płynów.

Bywają przypadki (np. posocznica), gdy należy podać oba leki równocześnie i zachodzi obawa wystąpienia interakcji. Według niektórych danych (3) nie zaobserwowano dotychczas upośledzenia czynności nerek po równoczesnym podaniu dużych dawek Rocephinu oraz silnych diuretyków pętlowych, np. Furosemidu. Znacznie więcej publikacji donosi, że Furosemid może nasilać nefrotoksyczność cefalosporyn (5, 8 i in.).

W związku z tym postanowiono przebadać tę zależność i wpływ obu leków na nerki szczurów, podając zwierzętom odpowiednie dawki Rocephinu i Furosemidu, porównywalne do dawek stosowanych u ludzi.

MATERIAŁ I METODYKA BADAŃ

Badania przeprowadzono na szczurach białych (samicach) rasy Wistar, o masie ciała 180—200 g, które podzielono na 4 grupy. Zwierzęta grupy I doświadczalnej otrzymywały Rocephin w dawce 0,115 g/kg masy ciała; zwierzęta grupy II doświadczalnej otrzymywały Furosemid w dawce 0,023 g/kg masy ciała; zwierzętom grupy III doświadczalnej podawano Rocephin i Furosemid w dawkach stosowanych w grupie I i II; grupę IV stanowiły zwierzęta kontrolne, którym podawano wodę destylowaną.

Doświadczenie trwało 7 dni. Leki podawano dootrzewnowo raz na dobę przed porannym posiłkiem. Po upływie jednej doby od otrzymania ostatniej dawki zwierzęta uśpiono i pobrano lewe nerki do badań histologicznych i histochemicznych. Wycinki nerek utrwalano w płynie Carnoya do badań histologicznych (hematoksylina i eozylna) i wykrywania polisacharydów (met. PAS wg McManusa) oraz w płynie Bakera do badań histochemicznych (wykrywanie aktywności fosfatazy kwasnej i zasadowej wg met. Gomoriego).

WYNIKI BADAŃ

BARWIENIE HEMATOKSYLINĄ I EOZYNĄ

W korze nerki po podaniu Rocepinu obserwowano poszerzenie niektórych kanalików proksymalnych, liczne przestrzenie wypełnione płynną zawartością o charakterze kwasochłonnym oraz nieznaczne przekrwienie narządu. Niektóre ciała nerkowe uległy zniekształceniu, a w komórkach nabłonka kanalików wystąpiła zwiększona kwasochłonność cytoplazmy.

Po podaniu Furosemidu kwasochłonność cytoplazmy w komórkach kanalików proksymalnych i dystalnych również była zwiększona w porównaniu z obrazem kontrolnym. Jądra komórkowe wykazywały zwiększoną zasadochłonność. Niektóre naczynia krwionośne uległy poszerzeniu, nastąpiło też nieznaczne przekrwienie narządu (ryc. 1).

Po podaniu obu leków znacznie słabiej zabarwiły się jądra komórkowe, a granice między komórkami stały się słabo widoczne. W świetle wielu kanalików proksymalnych uwidoczniły się złogi i obumarłe komórki. Wiele ciałek nerkowych było zniekształconych (ryc. 2).

WYKRYWANIE POLISACHARYDÓW METODĄ PAS wg McMANUSA

W nerce kontrolnej aktywność glikogenu ujawniała się przede wszystkim w błonach podstawowych nabłonków, w rąbku szczoteczkowym kanalików proksymalnych, a także w ciałkach nerkowych. W nerkach zwierząt wszystkich grup doświadczalnych intensywność reakcji w wymienionych strukturach zwiększyła się, szczególnie w błonach podstawowych (ryc. 3 i 4).

WYKRYWANIE AKTYWNOŚCI FOSFATAZY KWAŚNEJ

W obrazach kontrolnych (grupa IV doświadczalna) silny ziarnisty odczyn lokalizował się w komórkach nabłonka kanalików proksymalnych. Po podaniu Rocephinu aktywność enzymu zwiększyła się, natomiast Furosemid spowodował zmniejszenie reakcji (ryc. 5). Po równoczesnym podaniu obu leków niektóre kanaliki proksymalne były całkowicie wypełnione barwnymi ziarnistościami, inne natomiast wykazywały niewielkie ich nagromadzenie (ryc. 6).

WYKRYWANIE AKTYWNOŚCI FOSFATAZY ZASADOWEJ

W nerce kontrolnej intensywny odczyn na fosfatazę zasadową obserwowano w rąbku szczoteczkowym kanalików proksymalnych nerki.

W grupie I doświadczalnej aktywność enzymu w strukturze tej wzrastała, natomiast po podaniu Furosemidu uległa znacznemu obniżeniu (grupa II doświadczalna) — ryc. 7.

Po podaniu obu leków reakcja wystąpiła nie tylko w rąbku szczoteczkowym, ale również w komórkach kanalików proksymalnych (ryc. 8).

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Nefrotoksyczność cefalosporyn (szczególnie I generacji) jest dyskutowana w wielu publikacjach (1, 4, 7, 9). Wyraża się ona nekrozą

komórek nabłonka, nie tylko w kanalikach proksymalnych, ale i w pędach rdzeniowych. Niektórzy autorzy (10) uważają, że uszkodzenia nerek po stosowaniu cefalosporyn występują jedynie u zwierząt doświadczalnych, u ludzi natomiast nie obserwuje się toksyczności.

Znane są również badania dotyczące równoczesnego podawania pacjentom niektórych cefalosporyn (np. Cefotiamu) i Furosemidu, co powodowało m.in. wydalanie z moczem enzymów lizosomalnych (8). Rocephin, według piśmiennictwa (2), nie kumuluje się w nerkach i wywołuje tylko nieznaczne uszkodzenia w komórkach nabłonka. Według Childsa i wsp. (3) równoczesne podanie Rocephinu i Furosemidu nie powoduje upośledzenia czynności nerek. Sam Furosemid może zmieniać intensywność reakcji enzymatycznej w korze nerki (6), co wykazały również niniejsze badania.

Na podstawie naszych obserwacji można wnioskować, że podanie obu leków zmienia w nerkach zwierząt doświadczalnych niektóre procesy cytofizjologiczne.

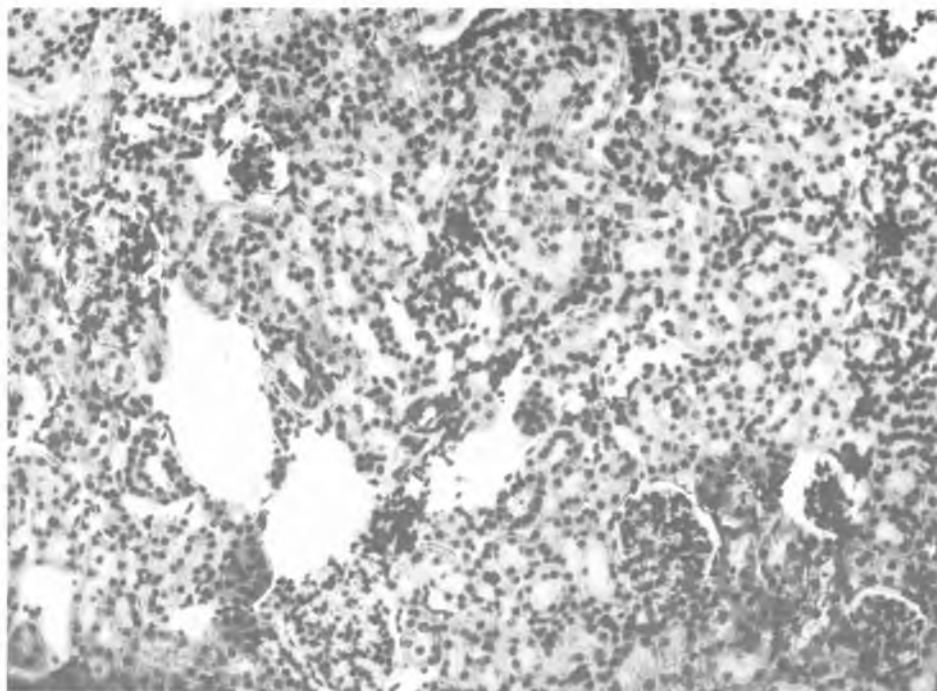
Przeprowadzone testy na aktywność glikogenu wykazały, że nastąpiło przesunięcie reakcji PAS-dodatniej. Zwiększony odczyn występował w rąbku szczoteczkowym kanalików proksymalnych, w błonach podstawnych nabłonków kanalików i naczyń krwionośnych, co świadczy o wzmożonych procesach wchłaniania zwrotnego.

Badania aktywności fosfataz niespecyficznych wykazały również różnice z obrazem kontrolnym. Po badaniu obu leków nastąpiło zróżnicowanie w intensywności reakcji na fosfatazę kwaśną. W niektórych kanalikach proksymalnych aktywność enzymu była bardzo silna, w innych — słabsza.

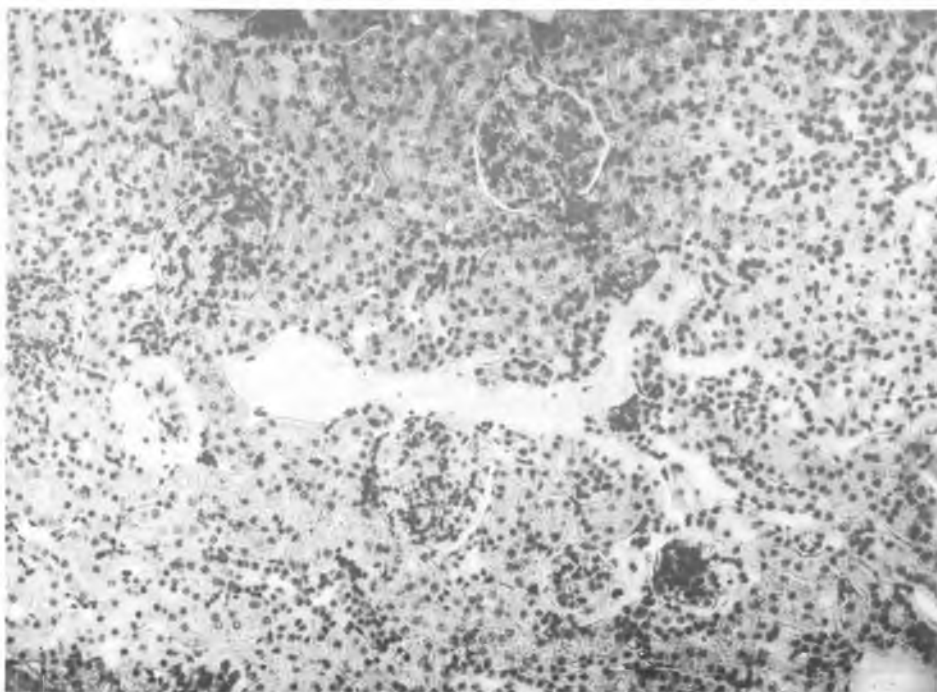
Fosfataza zasadowa, odgrywająca zasadniczą rolę w resorpcji zwrotnej glukozy, w nerce szczura po podaniu obu leków wykazywała reakcję nie tylko w rąbku szczoteczkowym, ale również w cytoplazmie komórek nabłonka kanalików proksymalnych.

Aktywność obu fosfataz jest charakterystyczna dla struktur miąższu nerki, obserwowane zmiany świadczą więc o toksycznym wpływie równoczesnego podawania Rocephinu i Furosemidu.

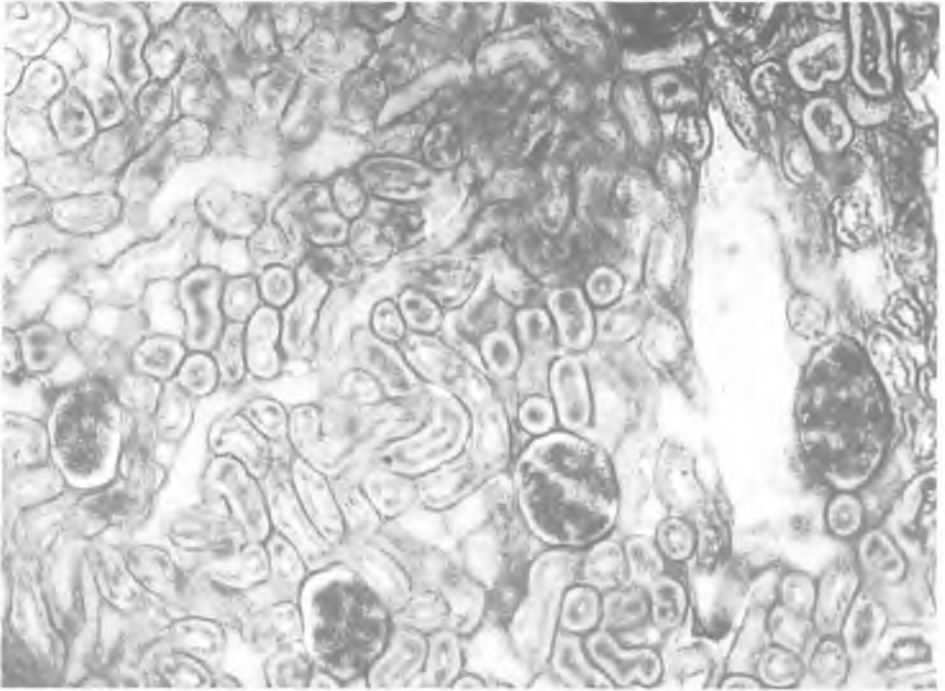
Standardowe barwienie hematoksyliną i eozyną wykazało, że po zastosowaniu leków nastąpiły zaburzenia w strukturach nerki zwierząt doświadczalnych. Szczególnie widoczne były zniekształcenia niektórych



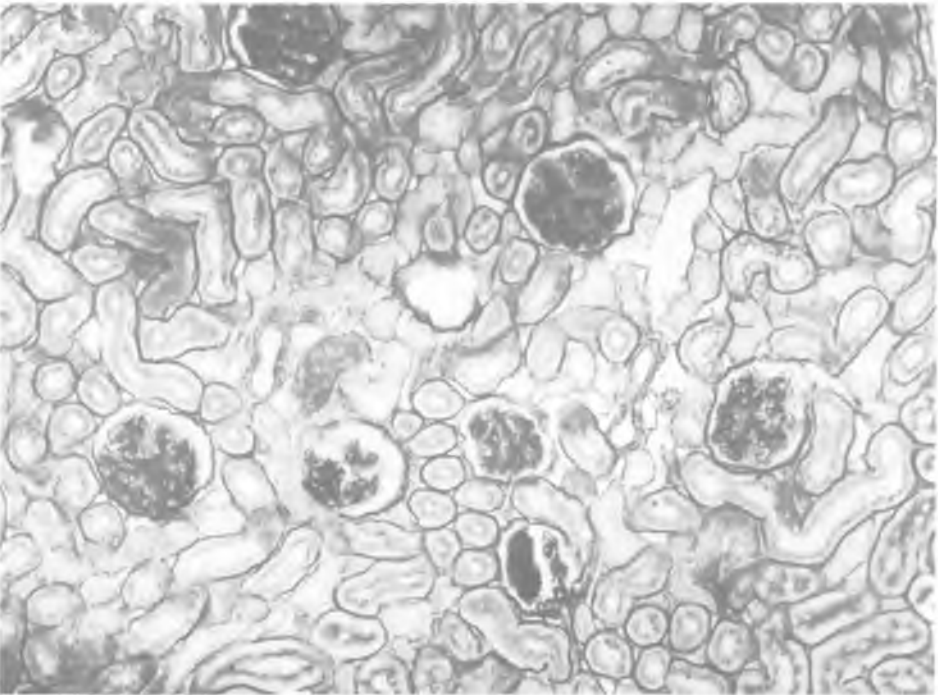
Ryc. 1



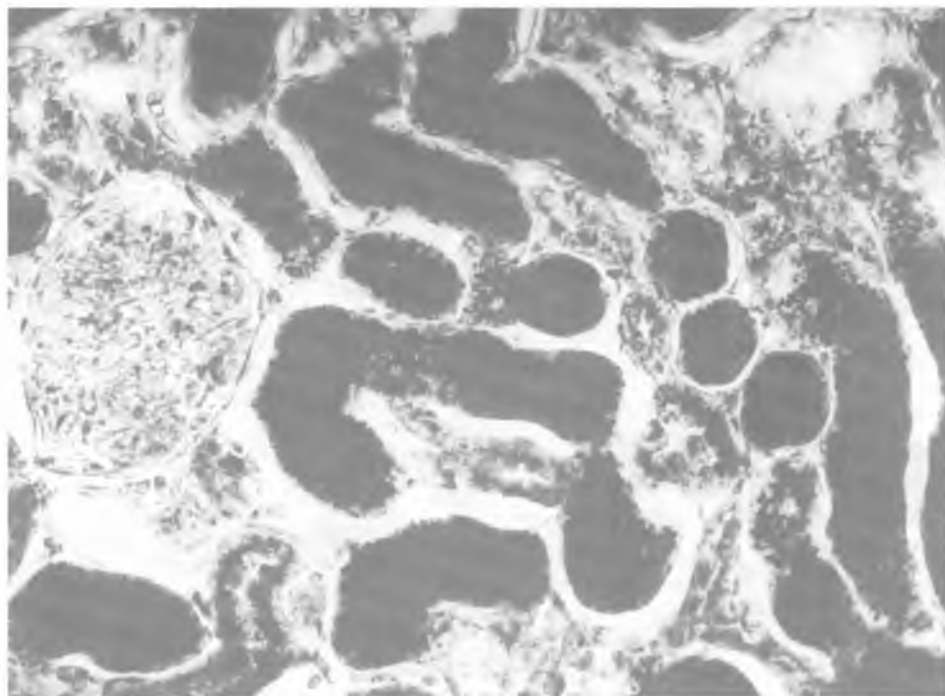
Ryc. 2



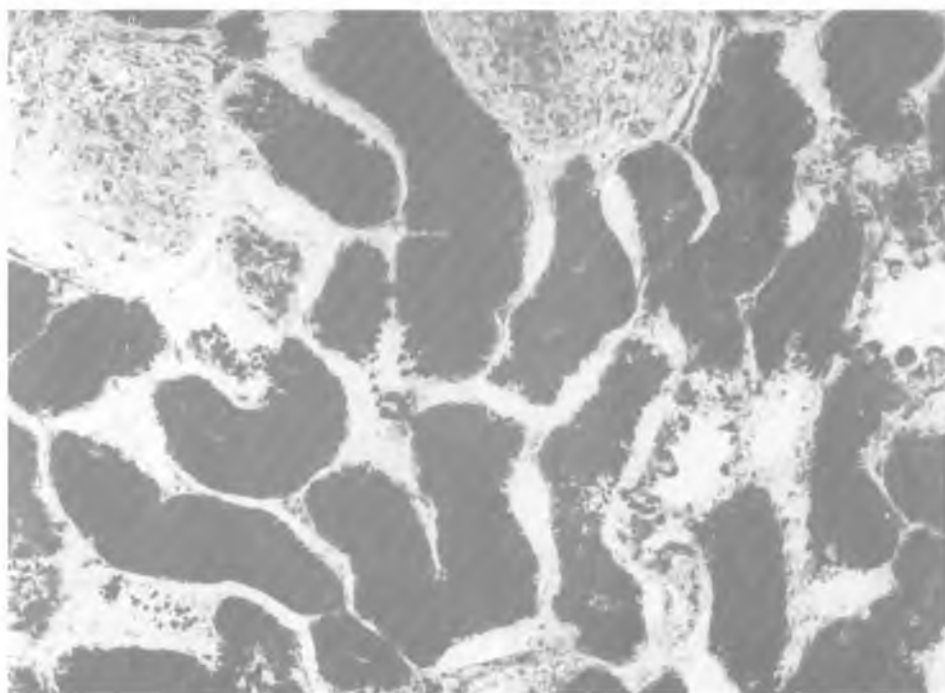
Ryc. 3



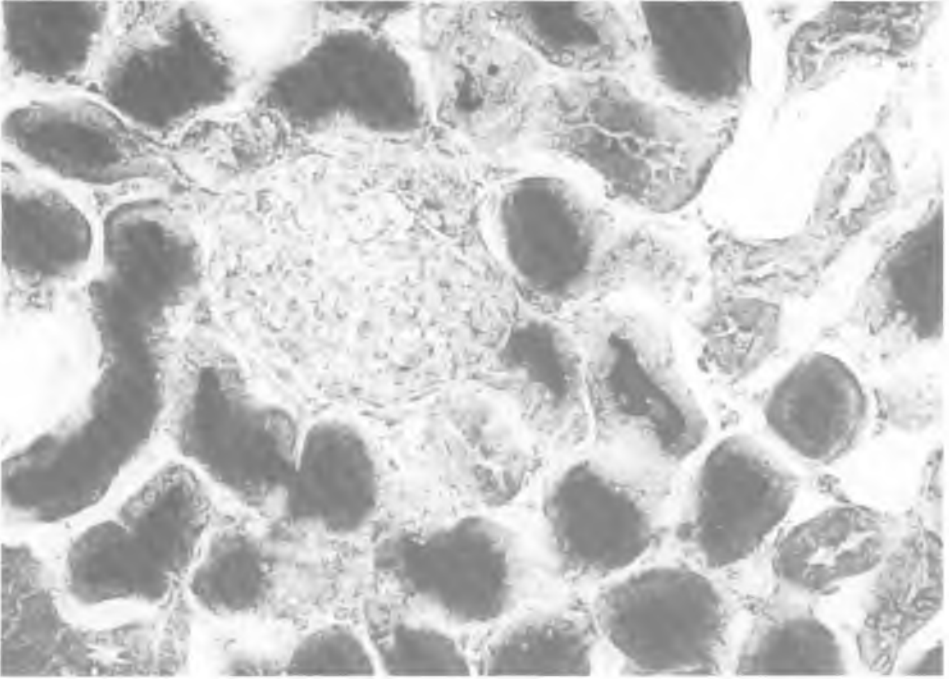
Ryc. 4



Ryc. 5



Ryc. 6



Ryc. 7



Ryc. 8

ciałek nerkowych oraz zmieniona barwliwość jąder komórkowych i cytoplazmy; również obumarłe komórki i złożki w świetle wielu kanalików proksymalnych.

PIŚMIENNICTWO

1. Anand A. J., Bashey B.: Newer insights into cisplatin nephrotoxicity. *Ann. Pharmacother.*, 27, 1519, 1993.
2. Beauchamp D. i wsp.: Ceftriaxone protects against tobramycin nephrotoxicity. *Antimicrob. Agents. Chemother.*, 38, 750, 1994.
3. Childs S. J. i wsp.: Ceftriaxone for once-a-day therapy of urinary tract infection. *Am. J. Med.*, 77, 73, 1984.
4. Kato M. i wsp.: Nephrotoxicity of a new cephalosporin, DQ-2556, in rats. *Fundam. Appl. Toxicol.*, 18, 532, 1992.
5. Kostowski W., Kubikowski D.: *Podstawy farmakologii*. PZWL, Warszawa 1994.
6. Matysek M. i wsp.: Wpływ Furosemidu na odczyny histochemiczne w nerce. *Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, sectio D, vol. 43*, Lublin 1988.
7. Nagashima K. i wsp.: Effects of KW-3902, a novel adenosine A1 — receptor antagonist, on cephaloridine-induced acute renal failure in rats. *Jpn. J. Pharmacol.*, 64, 9, 1994.
8. Riegel W., Horl W.H.: Potential nephrotoxicity of 2nd generation cephalosporins: cefuroxime versus cefotiam. *Infection. Suppl.*, 1, S14, 1993.
9. Rush G. F. i wsp.: Cephaloridine-induced renal pathological and biochemical changes in female rabbits and isolated proximal tubules in suspension. *Toxicol. Pathol.*, 20, 155, 1992.
10. Zhanel G. G.: Cephalosporin-induced nephrotoxicity: does it exist? *DIPC*, 24, 262, 1990.

Otr. 1996.04.16

SUMMARY

Histochemical studies were conducted on kidney sections of white rats, which were given Rocephin, Furosemide and Rocephin with Furosemide for 7 days.

The results show changes in the activity of cellular enzymes like acid phosphatase, alkaline phosphatase and in polysaccharides. Some of kidney's bodies were destroyed after the treatment with Rocephin jointly with Furosemide.

OBJAŚNIENIA RYCIN

Ryc. 1. Grupa II doświadczalna. Nerka szczura — barwienie hematoksyliną i eozyną. Pow. ok. 200 × .

Experimental group II. Kidney of rat — staining with hematoxylin and eosin. Magn. ca 200 × .

Ryc. 2. Grupa III doświadczalna. Nerka szczura — barwienie hematoksyliną i eozyną. Pow. ok. 200 × .

Experimental group III. Kidney of rat — staining with hematoxylin and eosin. Magn. ca 200 × .

Ryc. 3. Grupa II doświadczalna. Nerka szczura — reakcja PAS. Pow. ok. 200 × .

Experimental group III. Kidney of rat — PAS-method staining. Magn. ca 200 × .

Ryc. 4. Grupa III doświadczalna. Nerka szczura — reakcja PAS. Pow. ok. 200 × .

Experimental group III. Kidney of rat — PAS-method staining. Magn. ca 200 × .

Ryc. 5. Grupa II doświadczalna. Nerka szczura — odczyn na fosfatazę kwaśną. Pow. ok. 200 × .

Experimental group II. Kidney of rat — acid phosphatase activity. Magn. ca 200 × .

Ryc. 6. Grupa III doświadczalna. Nerka szczura — odczyn na fosfatazę kwaśną. Pow. ok. 200 × .

Experimental group III. Kidney of rat — acid phosphatase activity. Magn. ca 200 × .

Ryc. 7. Grupa II doświadczalna. Nerka szczura — odczyn na fosfatazę zasadową. Pow. ok. 200 × .

Experimental group II. Kidney of rat — alkaline phosphatase activity. Magn. ca 200 × .

Ryc. 8. Grupa III doświadczalna. Nerka szczura — odczyn na fosfatazę zasadową. Pow. ok. 200 × .

Experimental group III. Kidney of rat — alkaline phosphatase activity. Magn. ca 200 × .