

---

Z Katedry Anatomii Patologicznej Wydziału Weterynaryjnego WSR w Lublinie  
Kierownik: prof. dr Tadeusz Żuliński

---

Bolesław RUBAJ, Henryk ZAJĄC

**Aktywność fosfatazy zasadowej w nerkach małp *Macacus rhesus*  
po przebytych transporcie lotniczym**

**Активность щелочной фосфатазы в почках обезьян *Macacus rhesus*  
после транспорта самолетом**

**Activity of Alkaline Phosphatase in the Kidneys of *Macacus rhesus*  
after Air Transport**

Badania własne (15), oparte na badaniu histologicznym i histochemicznym nadnerczy oraz innych narządów padłych małp, wykazały bardzo wyraźne, stressowe oddziaływanie transportu na organizm przewożonych zwierząt. Działanie to, przejawiające się nadmiernym czynnościowym pobudzeniem kory nadnerczy, prowadziło w wielu przypadkach do jej wyczerpania i było przyczyną zejść śmiertelnych małp w okresie adaptacji. W dalszych badaniach (16) stwierdzono wyraźnie obniżony histochemiczny odczyn fosfatazy zasadowej w nadnerczach, jelitach oraz spadek poziomu tego samego enzymu w surowicy krwi obwodowej. Zjawisko to, jak się wydaje, pozostaje w związku z obniżoną czynnością kory nadnerczy i potwierdza pogląd wielu autorów (Kutscher, 11; Hebert, 7; Verne, 18 i 19; Verzar, 20; Konopacka, 9 i 10); na prostą zależność fosfatazy w jelitach od stanu czynnościowego kory nadnerczy oraz wpływu hormonów korowych (kortykoidów) na ogólny poziom tego enzymu we krwi. (Fraser i Laidlaw, 4).

W pracy niniejszej chodziło o wykazanie czy istnieje podobna zależność odczynu na fosfatazę zasadową w nerkach, gdzie, jak wiadomo, narząd ten zawiera bardzo dużą ilość tego enzymu, spełniającego bardzo ważną rolę w procesie resorpcji zwrotnej glikozy i fosforanów.

Kutscher i Wüsl (11) stwierdzili u świnek morskich z objawami wypadniętej czynności kory nadnerczy bardzo wyraźny spadek aktywności fosfatazy nie tylko w jelitach, ale także w nerkach.



## MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na małpach *Macacus rhesus*, które przetransportowano samolotem z Indii do Polski w celu produkcji szczepionki przeciwko *poliomyelitis*. Do badań histochemicznych na fosfatazę zasadową pobrano wycinki nerek 30 małp padłych względnie ubitych w przeciągu 2 miesięcy po przebytych transporcie. W badaniach uwzględniano małpy z oznakami niewydolności czynnościowej kory nadnerczy, u których nie stwierdzono obecności zarasków chorobotwórczych.

Kontrolę stanowiły wycinki nerek 10 małp zdrowych i zaaklimatyzowanych zupełnie w kraju.

Materiał do badań pobierany był bezpośrednio po śmierci lub zabiciu zwierzęcia. Utrwalano go chloral-formolem wg metody Bakera i Fishmana (1, 12). Skrawki histologiczne grubości 10—15  $\mu$  sporządzono na mikrotomie mrozeniowym i osuszano na szkiełkach podstawowych. Fosfatazę zasadową wykrywano metodą Gössnera (5, 12), używając jako substratu fosforanu sodowego  $\alpha$  — naftyli oraz dwuazowej soli trwałej czerwieni TR w płynie buforowym weronałowym o pH 9,2—9,4. Po jednogodzinnym okresie inkubacji przepłukiwano preparaty i naklejało żeglicerolem.

Wykonano również zwykłe kontrole, jak przetrzymywanie w wysokiej temperaturze i inkubację bez substratu.

## WYNIKI BADAŃ

## Grupa kontrolna

W nerkach zwierząt kontrolnych odczyn na fosfatazę zasadową występuje pod postacią czerwionobrazowych ziarnistości zlokalizowanych w komórkach nabłonka kanalikowego. Największa intensywność odczynu dotyczy rąbka szczoteczkowego nabłonka wyściełającego kanaliki główne. Bardzo słaby odczyn występuje w śródbłonku naczyń kłębkowych, natomiast brak go zupełnie w kanalikach zbiorczych (fot. 1).

## Grupa doświadczalna

W nerkach zwierząt padłych bezpośrednio po transporcie stwierdza się bardzo znaczne zahamowanie odczynu na fosfatazę zasadową w nabłonku kanalikowym. Bardzo słaby odczyn ogranicza się tylko do rąbka szczoteczkowego komórek nabłonka kanalików głównych. Niekiedy reakcja jest widoczna tylko w pojedynczych nefronach, a w pozostałych brak jej zupełnie. Brak jest zupełnie odczynu w dalszych częściach kanalików nerkowych oraz w naczyniach kłębkowych (fot. 2).



Stan wyraźnie obniżonej czynności fosfatazy zasadowej w nerkach utrzymuje się około czterech tygodni od czasu przywiezienia małp. Po tym okresie nasilenie odczynu stopniowo wzrasta, tak że w szóstym tygodniu aklimatyzacji zakres rozmieszczenia fosfatazy odpowiada grupie kontrolnej, jednak stopień intensywności odczynu ulega zupełnemu wyrównaniu dopiero po upływie przynajmniej dwóch miesięcy.

#### OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ

Badania dowodzą, że u małp padłych z objawami niewydolności kory nadnerczy, przychodzi do bardzo wyraźnego zahamowania czynności fosfatazy zasadowej w nerkach. O ile w nadnerczach, jelitach oraz we krwi stopień aktywności enzymu osiąga najniższe wartości dopiero po upływie 2 tygodni po przebytych transporcie (16), to w nerkach stan ten obserwuje się już od pierwszych dni okresu adaptacji. Widoczny wzrost aktywności fosfatazy zasadowej zauważa się podobnie, jak w innych narządach, po upływie około 4 tygodni, gdy stan zdrowotny zwierząt zaczyna powracać do pewnej równowagi. Wyrównanie odczynu z poziomem prawidłowym następuje dopiero po upływie 2 miesięcy.

Biorąc pod uwagę, że przy czynnościowej niewydolności kory nadnerczy występuje w nerkach obniżenie aktywności fosfatazy zasadowej, można przypuszczać, że odpowiadające jej zmiany zachodzą również w całym systemie enzymatycznym, odpowiedzialnym za aktywny transport sodu i chlorków.

---

#### PIŚMIENICTWO

1. Baker J. R., Fishman W. H.: Effects of Chloral-Formol Fixation on Preservation and Localization of Five Enzymes, *J. Histochem. Cytochem.* 6, 1958, 85.
2. Bańkowski Z., Bicz W.: Histochemiczne i niektóre biochemiczne metody oznaczenia fosfataz. *Post. Hig. i Med. Dośw.*, 13, 1959, 170.
3. Chruściel T., Vorbrodt A., Samochowiec L., Grzybek H., Wacławczyk H.: Badania czynnościowe i histochemiczne nerek białych szczurów karmionych dietą miazdźcorodną. *Patologia Pol.*, XIV, 1, 1963, 15.
4. Fraser D., Laidlaw J. C.: Treatment of Hypophosphatasia with Cortisone. *The Lancet*, 28, 1956, 553.
5. Gössner W.: Histologischer Nachweis hydrolitischer Enzyme mit Hilfe der Azofarbstoffmethode Untersuchungen zur Methodik und vergleichenden Histotopik der Esterasen und Phosphatasen bei Wirbeltieren. *Histochemie*, 1, 1958, 48.
6. Herlant M., Timiras P. S.: Alkaline Phosphatases in Various Tissues of the Rat during the Alarm-Reaction. *Endocrinology*, 46, 1950, 243.



7. Hebert S.: Les phosphatases alcalines de l'intestin. Étude histochemique experimentale. Arch. de Biol., 61, 1950, 235.
8. Kar A. B., Roy S. K., Karkun J. N.: The Influence of Adrenocorticotrophic Hormone (ACTH) on Alkaline Phosphatase Activity in the Kidney and the Intestine of Rats. Acta Histochem. (Jena), 1, 1955, 175.
9. Konopacka B.: Fosfatazy w nabłonku jelitowym zarodków świń. Folia Morphol., t. VI, nr 3, 1955.
10. Konopacka B.: Fosfatazy we wczesnych okresach rozwoju zarodka i w organogenezie. Post. Hig. i Med. Dośw., 13, 1959, 179.
11. Kutscher W., Wüsl H.: Nebennierenrinde und alkalische Phosphatase. Hoppe-Seylers Zeitschr. f. Physiol. Chemie, 273 1942, 235.
12. Lennert K., Löffler H., Leder L. D.: Fermenthistochemische Untersuchungen des Lymphknotens. I. Mitteilung. Alkalische Phosphatase in Schnitt und Austrich. Virch. Arch. path. Anat., 334, 1961, 399.
13. Pinkiewicz E., Pietrzyk J., Rubaj B.: Działanie chloropromazyny (fenactilu) na organizm małp transportowanych samolotem. Medycyna Wet., XVIII, 1962, 488.
14. Richterich R.: Enzymopathologie. Springer-Verlag. Berlin—Göttingen—Heidelberg 1958.
15. Rubaj B.: Zmiany morfologiczne i histochemiczne w nadnerczach i innych narządach małp (*Macacus rhesus*) po przebytych transporcie. Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska, sectio DD, vol. XV, 2, Lublin 1960.
16. Rubaj B., Pinkiewicz E., Pietrzyk J.: Aktywność fosfatazy zasadowej w nadnerczach, jelitach i w surowicy krwi u małp *Macacus rhesus* po przebytych transporcie lotniczym. Medycyna Wet. XX, 1964, 741.
17. Stokłosa E.: Zmiany histochemiczne w narządach mięsowych szczurów białych, poddanych działaniu drgań mechanicznych niższych częstotliwości. Post. Hig. i Med. Dośw., 17, 1963, 785.
18. Verne J.: Le role de la cortico-surrenale dans l'activation de la phosphatase alcaline de l'intestin. Ann. d'Endocrin., 12, 1951, 810.
19. Verne J.: Ein neuer Aspekt der Histologie durch die Lokalisation der Enzyme. Cytochemische Studie über alkalische Phosphatasen und Esterasen. Ärztl. Forsch., 10, 1956, I/157—I/166.
20. Verzar F., Sailer E., Richterich R.: Einfluss der Nebennierenrinde auf die alkalische Phosphatase der Dünndarm- schleimhaut. Helvet. Physiol. Acta, 10, 1952, 231, 246.

#### OPIS TABLIC

Fot. 1. Odczyn histochemiczny na fosfatazę w nerce małpy zdrowej.

Fot. 2. Bardzo słaby odczyn histochemiczny na fosfatazę zasadową w nerce małpy padłej bezpośrednio po przebytych transporcie lotniczym.

Fot. 3. Odczyn histochemiczny na fosfatazę zasadową w nerce małpy padłej w szóstym tygodniu po przebytych transporcie lotniczym.



## РЕЗЮМЕ

Авторы провели гистохимические исследования над щелочной фосфатазой в почках 30 обезьян, павших или убитых после транспорта самолетом. При фиксировании материала использовано метод Бейкера и Фишмена, а при окрашивании — метод Гесснера.

Исследования показали, что у павших обезьян с симптомами недостаточности коры надпочечников, появляється очень отчетливое заторможение деятельности щелочной фосфатазы в почках. Заметное возрастание активности энзима отмечается только спустя около 4 недель, если состояние здоровья животных начинает возвращаться к некоторому равновесию. Выравнивание реакции правильного уровня наступает только в течение 2 месяцев.

## SUMMARY

The authors carried out histochemical investigations on the activity of alkaline phosphatase in the kidneys of 30 monkeys which had died or had been killed after air transport. The material was fixed by the method of Baker and Fishman, and stained according to Gössner.

It was found that in the monkeys which died showing symptoms of adrenal insufficiency the activity of alkaline phosphatase in the kidneys was markedly inhibited. A distinct increase in the activity of the enzyme can be seen after about 4 weeks, when the condition of the animals begins to improve. The normal level of the activity is reached after two months.

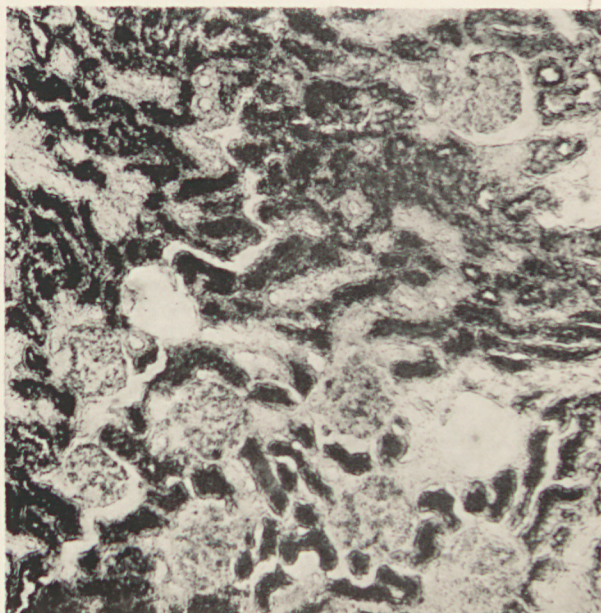
## EXPLANATION OF TABLES

Phot. 1. Histochemical reaction to alkaline phosphatase in the kidney of a healthy monkey.

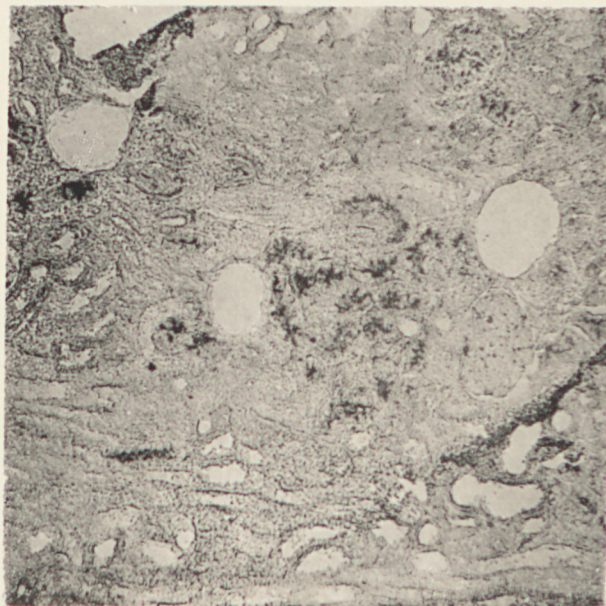
Phot. 2. Very weak histochemical reaction to alkaline phosphatase in the kidney of a monkey which died immediately after air transport.

Phot. 3. Histochemical reaction to alkaline phosphatase in the kidney of a monkey which died in the 6th week following air transport.



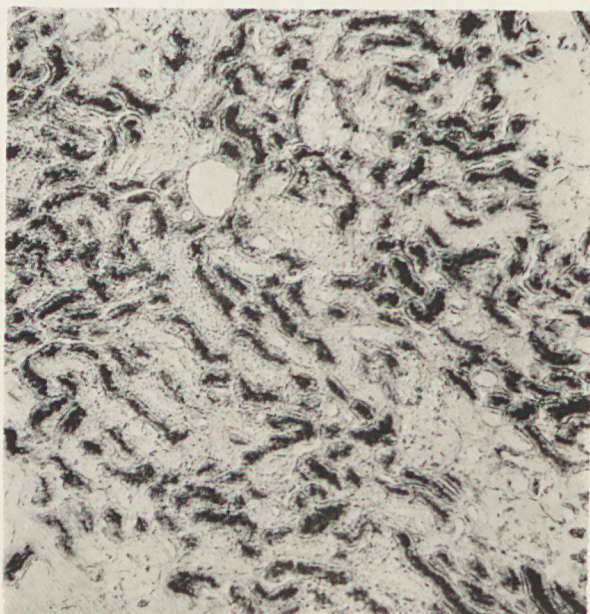


Fot. 1



Fot. 2





Fot. 3