

MODIFICAREA CONȚINUTULUI ÎN MUCOPOLIZAHARIDE AL UROTELIULUI ÎN CURSUL ADMINISTRĂRII DE EXTRACT DE FRUNZE DE PĂR

Gy. Kemény

De problema histochimiei uroteliului s-au ocupat relativ puțini autori. Această problemă a început să constituie o preocupare abia în ultimii ani, cu toate că uroteliul posedă o însușire foarte remarcabilă, anume impermeabilitatea. În sistemele cavitare căptușite cu uroteliu, curge sau stagnează urina, un lichid de cele mai multe ori intens hipertonic, care se deosebește considerabil de sevele tisulare, atât în ceea ce privește pH-ul, cât și compoziția lui. Tratatele și manualele de histologie sau nu explică de loc impermeabilitatea epiteliului, sau o atribuie mucusului („Harmukoid“ — Göldi — 11), care se acumulează în celulele superficiale. Potrivit acestei teorii, mucusul ar avea aici un simplu rol de substanță impregnantă. Meyer și Weimann (15) ca și Walker (21) nu au reușit însă să pună în evidență



Fig. nr. 1. - Epiteliul vezicii urinare al unui șobolan maritor, colorat cu alabastru alcian și cernetrocht. În citoplasma celulelor umbreliforme și chiar și pe suprafața celulelor în formă de pară situate sub primele s-au acumulat mucopolizaharide acide colorabile cu alcian.



Fig. nr. 3. - Uroteliul unui șobolan alb cărăuș i s-a administrat zilnic timp de 3 zile extract de frunze de păr pe cale perorală. În celulele umbreliforme ale epiteliului vezicii urinare colorarea cu alcian a pus în evidență mucopolizaharide în cantitate mică.
Toate mărirea: x 400.



Fig. nr. 2. - În uroteliul șobolanilor cărăuș li s-a administrat o singură dată extract de frunze de păr nu se pot pune în evidență mucopolizaharide după 24 de ore de la administrare.



Fig. nr. 4. - În uroteliul șobolanilor tratați zilnic, timp de 10 zile, cu extract de frunze de păr se observă în citoplasma celulelor umbreliforme înmulțirea mucopolizaharidelor colorabile cu alcian.

substanțe mucoide în celulele superioare ale epitelului, adică în celulele în umbrelă. Acești autori atribuie impermeabilitatea unei activități celulare. Ei susțin că în această activitate nu are rol nici o substanță care diminuează permeabilitatea. În schimbul, *Fridenstein* (25) și colaboratorii au dovedit că uroteliul mamiferelor produce o substanță intens colorabilă cu PAS (colorare cu reactiv Schiff după oxidare cu acid periodic, deci de natură polizaharidică și o secretează în cavitatea căilor urinare. Noi presupunem că această activitate secretoare trebuie să fie în strinsă legătură cu permeabilitatea redusă a epitelului.

În lucrarea de față ne propunem să studiem modul în care se modifică conținutul în mucopolizaharide al uroteliului sub acțiunea unui extract vegetal (frunză de păr), care după părerea noastră exercită un efect diminuant. Amintim că cercetările noastre anterioare au arătat că drogurile conținând arbutină (de exemplu frunzele de strugurele ursului sau frunzele de păr (1,22), intensifică activitatea fosfatazei alcaline a epitelului (13, 14). Empiric se utilizează încă de mult timp unele din aceste substanțe în tratamentul inflamațiilor căilor urinare. Fosfataza alcalină are în mod cert un rol important în funcțiunile biologice ale epitelului și după părerea noastră în sinteza substanțelor care produc impermeabilitatea. Supoziția noastră potrivit căreia extractul de frunze de păr diminuează permeabilitatea, este confirmată și de faptul că *Fries* (7) ca și *Fries* și *Walinder* (8) au arătat că unii derivați ai floretinei, asemănători substanțelor din extractele de frunze de păr, diminuează apreciabil permeabilitatea capilarelor și a pleurei.

Descrierea experiențelor

Am preparat un extract concentrat din frunze de păr uscate, culese la sfârșitul lunii mai, și l-am administrat în cantitate de 100—120 g la șobolani albi prin sondă gastrică.

Prima grupă a animalelor (10 șobolani) a primit o singură dată extract corespunzător unei cantități de 6 g de frunze. După 24 de ore de la administrare, animalele au fost sacrificate. A doua grupă formată de 10 șobolani albi a primit timp de 3 zile o doză zilnică de extract, corespunzătoare unei cantități de 6 g frunze uscate. Aceste animale au fost sacrificate după 4 ore de la administrarea ultimei doze. A treia grupă, formată tot din șobolani albi, a primit timp de 10 zile o doză zilnică de extract preparat din 6 g de frunze uscate. La 4 ore după ultima administrare, toate animalele au fost sacrificate prin sîngerare. Ca martori am utilizat la fiecare grupă, același număr de șobolani netratați pe care i-am sacrificat concomitent. O altă grupă, compusă din 10 animale, a primit timp de 10 zile prin sondă apă de lîntină.

Fragmente din vezica urinară, ficat și rinichi au fost fixate la -60° C. în soluție Sanomya (acid sulfosalicilic, acid acetic glacial, alcool absolut) și în acetona, precum și în formalină diluată 1:10 cu ser fiziologic, neutralizată prin soluție tampon și răcită la $+5^{\circ}$ C.

Din părțile de organe incluse în parafină am preparat secțiuni de 7 micrometri. Acestea au fost colorate cu PAS, prin procedeul lui Hale (fier coloidal), cu albastru de Alcian și H. E. Colorarea PAS a fost repetată și după tratarea cu ptialină, amilază, hialuronidază și ptialină — hialuronidază. Punerea în evidență a mucopolizaharidelor acide (prin metoda lui Hale și cu albastru de Alcian) a fost repetată și după sulfatare, metilare și saponificare (demitilare alcalină). Descrierea procedeelelor utilizate se află în cărțile tehnice de specialitate (14).

Rezultatele experiențelor și interpretarea lor

În activitatea fosfatazei alcaline a stratului de celule epiteliale localizat sub celulele umbreliforme nu s-a produs nici o modificare după administrarea unei singure doze. Administrarea, timp de 3, respectiv 10 zile, a intensificat activitatea enzimatică. Acest fenomen a fost observat și în cursul experiențelor noastre anterioare (13—14).

La digerare substanța PAS — pozitivă, pusă în evidență în celulele cu formă de pară și umbreliforme ale uroteliului s-a dovedit a fi formată parțial din glicogen, întrucît

ptialina și amilaza au slăbit colorarea. Mucopolizaharidele acide colorabile cu albastru de Alcian și cu metoda Hale și refractare digerării ptialinei au fost găsite în primul rând în celulele umbreliforme, dar într-o cantitate mai mică și în celulele subiacente. Hialuronidaza a diminuat numai în mică măsură, fără să suprimă colorarea cu metoda PAS. Rezultă prin urmare că în afară de aceste substanțe în epitelu se găsesc și alte mucopolizaharide.

După 24 de ore de la administrarea unei singure doze de extract de frunze de păr colorarea cu Alcian a citoplasmei celulelor epiteliale a diminuat atât de mult, încât chiar și în celulele umbreliforme, colorația albastră care semnalează prezența mucopolizaharidelor nu a putut fi observată decât sporadic.

După un tratament de 3 zile, mucopolizaharidele au apărut din nou în celulele superficiale ale epitelului. După un tratament de 10 zile preparatele au devenit asemănătoare cu cele ale martoriilor, deși colorarea cu Alcian nu a fost atât de intensă ca în uroteliul animalelor netratate.

Unii autori au găsit în uroteliul rozătoarelor și al altor mamifere glicogen în cantitate considerabilă (Göldi, 11), *Fridenstein* (3, 4), *Spicer* (18), *Harada* (12) etc. În schimb, alți autori ca *Vacek* și *Schuck* (19) nu au pus în evidență glicogen. Aceeași situație se constată și în cazul mucopolizaharidelor, problemă pe care am amintit-o în partea introductivă.

Într-o lucrare anterioară (13) am arătat că extractul de struguri ursului întrebunțat cu rezultate bune la vindecarea inflamațiilor vezicii urinare, intensifică activitatea fosfatazei alcaline a epitelului. Acest fenomen l-am observat și după administrarea extractului de frunze de păr care conține de asemenea arbutină (14).

Extractul de frunze de păr exercită asupra epitelului căilor urinare și în terapie un efect similar cu cel de *Uva ursi*.

Dispariția mucopolizaharidelor din epitelu la începutul tratamentului poate fi explicată prin faptul că secreția și aliminterii permanenți a acestor substanțe se accelerează în cursul administrării. Mai târziu producerea accelerată de substanțe mucoide contracarează secreția intensificată, restabilindu-se astfel echilibrul dintre cele două activități.

Noi presupunem că fosfataza alcalină are rol în sinteza mucopolizaharidelor. Această supoziție este confirmată de faptul că fosfataza alcalină apare în țesutul conjunctiv, în substanța intercelulară, întotdeauna acolo unde se produc mucopolizaharidele fibrelor precologene (de exemplu, în timpul vindecării plăgilor). Pe de altă parte, în uroteliu această enzimă se pune în evidență sub celulele umbreliforme, pe suprafața celulelor în formă de pară. Or, se știe că tocmai la acest nivel are loc sinteza mucopolizaharidelor. Presupunerea noastră este susținută de unele date din literatură, potrivit cărora fosfataza alcalină are rol în producerea mucopolizaharidelor (20).

Fridenstein (2, 3, 5) a arătat că uroteliul secretează permanent în cavitatea căilor urinare o substanță PAS pozitivă, deci de natură polizaharidică, numită de autor *pelvină*.

Conținutul în mucopolizaharide al epitelului variază în funcție de specia de animale și de starea lui de activitate. De aceea nu toți autorii au reușit să-l pună în evidență și de aici rezultă caracterul contradictoriu al datelor din literatură.

În cadrul lucrării de față nu ne putem ocupa de activitatea extrem de complexă care asigură impermeabilitatea parțială a epitelului. Totuși trebuie să stabilim că în această activitate mucopolizaharidele acide au un rol important în uroteliu, la fel ca și în alte epiteli și membrane delimitante (10). De asemenea pe baza observațiilor noastre pare probabil că impermeabilitatea se produce în urma secreției substanțelor mucoide, fiind adică rezultatul unei activități celulare.

Concluzii

Activitatea fosfatazei alcaline din uroteliul șobolanilor albi cărora li s-a administrat prin sondă gastrică extract apos de frunze de păr nu a prezentat modificări apreciabile în prima zi, dar în ziua a treia și a 10-a s-a intensificat.

Polizaharidele puse în evidență în stratul superficial al epitelului (celulele umbreliforme) și în primul rând mucopolizaharidele acide au dispărut aproape complet în prima zi de administrare a extractului, pentru ca apoi să repara treptat.

Observațiile făcute ne îndreptătesc să presupunem că mucopolizaharidele acide au un rol important în impermeabilitatea uroteliului. Ele sînt secretate în permanență de epitelu în cavitatea căilor urinare. Sub efectul extractului se intensifică mai întii activitatea secretoare și de aceea polizaharidele dispar din epitelu. Mai tîrziu, producerea acestora se accelerează, ca urmare a activării sistemului enzimativ epitelial deci și a fosfatazei alcaline, fapt care restabilește organizarea histo-chimică inițială a epitelului.

Noi presupunem că extractul diminuează permeabilitatea uroteliului. Așa se explică efectul terapeutic, observat de mult timp, al substanțelor cu conținut în arbutină (frunze de Uva ursi) la vindecarea inflamațiilor vezicii urinare.

Sosit la redacție : 12 ianuarie 1962.

Bibliografie

1. BOURQUELOT E., FICHTENHOLZ.: Journ. Pharm. et Chimie (1910), 2, 3;
2. FRIDENSTEIN A.: Docladi Acad. Nauc SSSR (1958), 119, 1, 185—189;
3. FRIDENSTEIN A.: Biul. Eksper. Biol. i Med. (1959), 47, 4, 116—122;
4. FRIDENSTEIN A.: (1960), Biul. Eksper. Biol. i Med.;
5. FRIDENSTEIN A.: Biul. Eksper. Biol. i Med. (1960), 7, 84;
6. FRIEDRICH H.: Die Pharmazie (1957), 12, 10, 691—693;
7. FRIES B.: Acta Pharmacol. et Toxicol. (1958), 14, 378—384;
8. FRIES B., WALINDER G.: Acta Radiologica (1957), 48, 2, 113—122;
9. GEYER G.: Acta Histochem. (1958), 5 1—4, 62—78;
10. GHINEȚINSCHI A. G., IVANOVA L. N.: Docl. A. N. SSSR (1958), 119, 5, 1043;
11. GOLDI K.: Z. mikr. anat. Forschung. (1952) 58, 256;
12. HARADA S.: (1929), Sei-I-Kwai Med. J. 48, 4—5;
13. KEMENY G.: Conferință la SSM, fil. din Tg. Mureș (1958) Apr. 11.
14. KEMENY G., FUZI J., KISGYÖRGY Z., RACZ G.: Rev. Medicală (1958), 4, 3—4, 229;
15. MEYER J., WEINMANN J. P.: I. Histochem. Cytochem. (1957) 5, 354;
16. PEARSE A. G. EVERSON: J. and A. Churchill. London, (1960);
17. RACZ G.: Disertație pt. obținerea titlului de candidat în științe farmaceutice. Tg.-Mureș (1957);
18. SPICER S.: J. Histochem. Cytochem. (1958), 6, 52—63;
19. VACEK Z., SCHUCK O.: Anat. Rec. (1960), 136, 2, 87—95;
20. VORBRODT A.: Exp. Cell. Res. (1958), 15, 1, 1—20;
21. WALKER B. E.: J. Ultrastr. Res. (1960) 3, 4, 345—361;
22. WILLIAMS A. H.: The distribution of phenolic compounds in apple and pear trees. „Phenolics in plants in health and disease“. Pergamon Press, Oxford, London, New-York, Paris. (1959).