

ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN — POLONIA

VOL. XXI, 9

SECTIO D

1966

Katedra i Zakład Histologii i Embriologii. Wydział Lekarski. Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: prof. dr med. Stanisław Grzycki

Katedra i II Klinika Chirurgiczna. Wydział Lekarski. Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: prof. dr med. Feliks Skubiszewski

Aleksander PAWŁOWSKI

**Rozmieszczenie i aktywność fosfataz w wątrobie przy wrzodach żołądka
i dwunastnicy. I. Fosfataza kwaśna**

Distribution and Activity of Acid Phosphatase in the Liver of Patients Affected
with Stomach and Duodenum Ulcers

Choroba wrzodowa żołądka i dwunastnicy może prowadzić do zaburzeń czynności wątroby: przemiany białkowej, zaburzeń w gospodarce węglowodanowej, tłuszczowej i witaminowej. Fosfatazy odpowiedzialne w dużym stopniu za przemiany białek, kwasów nukleinowych, węglowodanów i niektórych tłuszczowców ulegają zaburzeniom przy uszkodzeniu czynności wątroby.

Dotychczasowe badania fosfataz przeprowadzano najczęściej na materiale zwierząt doświadczalnych po uprzednim uszkodzeniu wątroby. Konieczne więc wydaje się podjęcie histochemicznych badań tych enzymów w warunkach klinicznych w wątrobie prawidłowej i patologicznie zmienionej. Należało bowiem odpowiedzieć na pytania: 1) czy istnieją zmiany w rozmieszczeniu i aktywności fosfataz w wątrobie chorych przeznaczonych do operacji z powodu wrzodu żołądka i dwunastnicy, 2) czy zaburzenia w rozmieszczeniu i aktywności fosfataz dotyczą wszystkich chorych z wrzodem żołądka i dwunastnicy, 3) w jakim stosunku pozostaje zachowanie się fosfataz do stwierdzalnych w czasie operacji zmian anatomopatologicznych w żołądku i dwunastnicy, jaki jest wpływ czasu trwania choroby na zachowanie się fosfataz w wątrobie.

MATERIAŁ I METODYKA BADAŃ

Badania przeprowadzono na 20 chorych, operowanych w II Klinice Chirurgicznej A. M. w Lublinie z powodu wrzodu żołądka i dwunastnicy (20 przypadków: 18 mężczyzn i 2 kobiety). Wiek chorych płci obojga wahał się w granicach od 24 do 59 lat. Chorych powyżej lat 60 wyłączono z materiału z uwagi na większe prawdopodobieństwo uszkodzenia czynności wątroby na skutek zmian starczych oraz krwawiące wrzody żołądka uważając, że chorzy tacy wymagają oddzielnego przebadania. Wyłączono również te przypadki, u których podejrzewano uszkodzenie czynności wątroby na jakimkolwiek innym tle niż wrzód żołądka i dwunastnicy.

W doborze przypadków uwzględniono także rodzaje podawanych przed operacją leków, które mogłyby przyczynić się do osłabienia czynności wątroby oraz dotychczasowy tryb życia chorych, zwracając szczególną uwagę na przyjmowanie środków narkotycznych, picie alkoholu, przebyte choroby wątroby lub przebyte inne choroby, mogące mieć wpływ na jej czynność.

Obserwacje histochemiczne wątroby obejmowały: a) przypadki wrzodu żołądka stwierdzonego radiologicznie na krzywiźnie małej lub dużej, na ścianie przedniej lub tylnej. Niektóre wrzody powikłane były zwężeniem odźwiernika. Jeden przypadek dotyczył chorego z przedziurawieniem wrzodu żołądka; b) przypadki kontrolne, u których wywiad i badanie kliniczne nie budziły podejrzenia uszkodzenia czynności wątroby. Były to 2 przypadki ciała obcego w żołądku poddane z tego powodu zabiegowi operacyjnemu, 1 przypadek przepukliny pępkowej i jeden przypadek przewlekłego zapalenia wyrostka robaczkowego. Wycinki wątroby pobierano z lewego płata przedniego brzoju w odległości około 3 cm od wcięcia pępkowego. Czas pobierania wycinków w odniesieniu do początku znieczulenia i operacji był ściśle ustalony w każdym przypadku i wynosił 1 godz. od początku znieczulenia, a 45 min. do 50 min. od chwili rozpoczęcia operacji. W 10 przypadkach pobierano dodatkowo wycinki wątroby na samym początku operacji w celu stwierdzenia czy istnieją zmiany wywołane urazem oraz dłuższym okresem znieczulenia.

Wszyscy chorzy operowani byli w bardzo zbliżonych warunkach znieczulenia ogólnego, w ten sposób możliwy wpływ tego czynnika na wyniki badań był u wszystkich chorych podobny. Pobrane wycinki z wątroby utrwalono w oziębnym do +4°C płynie Bakera. Histochemicznie fosfatazę kwaśną wykrywano wg metody Gomoriego, zmodyfikowanej przez Vorbrodta (14). Substrat składał się z β -glicerofosforanu sodowego zmieszanego z buforem octanowym o pH 5,4 i azotanem ołowiu. Preparaty kontrolne inkubowano bez substratu lub inaktywowano enzym w temperaturze 90°C przez 15 minut. Ocena otrzymanych wyników badań polegała na porównywaniu intensywności reakcji w tkance badanej z intensywnością uzyskaną na standardzie.

BADANIA WŁASNE

Badania histochemiczne wątroby u chorych z wrzodem żołądka lub dwunastnicy wykazywały zmiany w rozmieszczeniu i aktywności fosfatyz w porównaniu z grupą kontrolną.

Fosfataza kwaśna (Fk)

Fosfataza kwaśna występowała w ziarnistościach odpowiadających lizosomom wg de Duve'a i Novikoffa. Ziarnistości zgrupowane były w cytoplazmie komórek wątrobowych pomiędzy jądrem i kanalikami żółciowymi, tj. w obwodowych częściach komórek. W związku z tym można było zauważyć wyraźną reakcję Fk wokół kanalików żółciowych. W obwodowych częściach zrazika odczyn na Fk był silniejszy, ponadto występował tu w niektórych komórkach intensywny odczyn na Fk w okołojądrowej strefie Golgiego lub w jednym z biegunów komórki. Również dużo ziarnistości spotykało się w komórkach Browicza-Kupffera.

Na 20 przypadków badanych chorych z wrzodem żołądka lub dwunastnicy zmiany w rozmieszczeniu i aktywności **Fk** spotykano w 18 przypadkach. U 2 chorych ilość, wielkość i rozmieszczenie lizosomów odpowiadały grupie kontrolnej. Były to wrzody wielkości wiśni i orzecha laskowego położone w części przedodźwiernikowej na ścianie przedniej. Czas trwania choroby wynosił tu 8 mies. i 2 lata.

U 5 chorych obserwowano dużą ilość lizosomów średniej wielkości z odczynem dyfuzyjnym **Fk** w cytoplazmie komórek wątrobowych. Niektóre lizosomy były przerosłe. W komórkach Browicza-Kupffera widoczne były również ziarnistości z odczynem dyfuzyjnym **Fk** w cytoplazmie (ryc. 1). Wrzody u tych chorych umiejscowione były na tylnej ścianie odźwiernika. Wielkość wrzodów wynosiła około 1 cm × 1 cm. Czas trwania choroby u tych chorych wynosił 6 mies., 9 mies., 3,3 i 4 lata.

W 5 przypadkach ilość lizosomów była bardzo duża, a tylko niektóre z nich wykazywały cechy przerostu. Znaczna część lizosomów była uszkodzona, a **Fk** rozmieszczona była w cytoplazmie komórek wątrobowych (ryc. 2). Były to wrzody: a) wielkości monety 5 groszy w okolicy przedodźwiernikowej na tylnej ścianie z twardą blizną dookoła wrzodu, b) wrzód wielkości monety 2 złotych w połowie trzonu żołądka na ścianie tylnej drążący głęboko w trzustkę, c) duży wrzód na dwunastnicy drążący do trzustki, d) dwa przypadki wrzodów umiejscowione na tylnej ścianie odźwiernika przy jednoczesnym niewielkim zwężeniu odźwiernika. Czas trwania choroby w tych przypadkach wynosił: 2, 3, 5, 10 i 15 lat.

U 8 chorych lizosomy występowały w bardzo dużej ilości. Dużo lizosomów było przerosłych. Występował duży odczyn dyfuzyjny **Fk** w cytoplazmie komórek wątrobowych. Komórki Browicza-Kupffera były całkowicie wypełnione przez ziarnistości i **Fk** rozmieszczoną w cytoplazmie (ryc. 3). Były to: 3 przypadki z niewielkimi wrzodami na tylnej ścianie odźwiernika i ze znacznym zwężeniem odźwiernika, 2 przypadki wrzodów na tylnej ścianie odźwiernika wielkości monety 10 groszy z niewielkim zwężeniem odźwiernika, przypadek przedziurawionego wrzodu żołądka wielkości prosa na ścianie tylnej, przypadek wrzodu wielkości fasoli w części przedodźwiernikowej na tylnej ścianie z niewielkim zwężeniem odźwiernika i przypadek wrzodu wielkości monety 20 groszy na tylnej ścianie dwunastnicy drążący do trzustki i częściowo zwężający światło dwunastnicy. Czas trwania choroby u tych chorych wynosił: 6 mies., 2, 3, 3, 5, 7, 8 i 9 lat.

OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ

Po zastosowaniu metod histochemicznych obserwowano zmiany w rozmieszczeniu i aktywności fosfatyz zachodzące w mięszu wątroby

przy wrzodach żołądka i dwunastnicy u chorych poddanych zabiegom operacyjnym z tego powodu. Wzmożenie lub osłabienie czynności określonego enzymu nabiera szczególnej wagi, wiąże się bowiem ze zwiększeniem lub osłabieniem, albo nawet zatrzymaniem określonego cyklu przemian biochemicznych komórki (7, 9). W związku z powyższym badania fosfataz wykrytych histochemicznie można uważać za równie miarodajne, jak i próby chemiczne przy określaniu czynności wątroby.

Obserwowane zmiany w rozmieszczeniu i aktywności fosfatazy kwaśnej należy rozpatrywać w połączeniu z innymi enzymami hydrolytycznymi. Zarówno fosfataza kwaśna, jak i 10 zidentyfikowanych innych enzymów hydrolytycznych występują w ziarnistościach nazwanych przez *de Duve'a* lizosomami (4, 10). Cienka otoczka zbudowana z lipoproteidów odgranicza te enzymy od ich substratów zawartych w cytoplazmie, takich jak: białka, kwasy nukleinowe i mukopolisacharydy (11). Enzymy stykają się ze swymi substratami w wypadku zwiększenia przepuszczalności lub uszkodzenia tej otoczki (11). Proces włączania się fosfatazy kwaśnej w przemiany tych związków nie jest poznany (12).

W badaniach własnych zauważono pewną współzależność pomiędzy ilością i wielkością lizosomów a zwiększeniem się przestrzeni międzybeleckowych zrazika wątroby i znacznym poszerzeniem włóscinek wątroby. O poszerzeniu przestrzeni międzybeleckowych zrazika wątroby w przypadkach kamicy pęcherzyka żółciowego donosili *E d l u n d* i *Z e t t e r g r e n* (6). Takie spostrzeżenia mogą w pewnym stopniu potwierdzać słuszność teorii *B a r k i* o wzmożonej pinocytozie (1).

Badania nad lizosomami w przypadkach uszkodzenia czynności komórki doprowadziły *N o v i k o f f a* (11) do przekonania, że wczesne zmiany komórkowe pociągają za sobą znaczne powiększenie lizosomów, o czym również donieśli *W a c h s t e i n* i *w s p.* (13) oraz *D e a m s* i *v a n R i j s e l* (3). Cięższe i dłużej trwające uszkodzenie czynności komórek wątrobowych związane jest ze zwiększeniem ilości i pękaniem lizosomów (13). *B e a u f a y* i *w s p.* (2) wykazali również w homogenatach autolitycznej tkanki, że określone struktury mielinowe pozostające poza frakcją L w przebiegu procesów degeneracyjnych komórki związane są ze zmniejszeniem aktywności enzymatycznej lizosomów, a powstanie ich wiąże się z rozerwaniem lizosomów.

Stwierdzone zmiany w zachowaniu się kwaśnej fosfatazy przy wrzodach żołądka i dwunastnicy nabierają szczególnego znaczenia w świetle wywodów wymienionych autorów. Obserwowano bowiem w 18 przypadkach na 20 badanych chorych z wrzodem żołądka lub dwunastnicy zmiany w ilości i wielkości lizosomów i zmiany w umiejscowieniu się czynnej fosfatazy kwaśnej.

De Man i wsp. oraz Novikoff podali, że lizosomy występujące w komórkach Browicza-Kupffera mają większe rozmiary w porównaniu z lizosomami w komórkach wątrobowych (5). W wypadku zmian wczesnych przy uszkodzeniu czynności komórek dochodziło do znacznego powiększenia lizosomów. Przy zmianach daleko posuniętych komórki Browicza-Kupffera wypełnione były całkowicie przez enzym (5, 11, 12).

W badaniach własnych zauważono pewną równoległość pomiędzy powiększeniem lizosomów w komórkach wątrobowych i komórkach Browicza-Kupffera. Występowanie odczynu dyfuzyjnego na Fk w cytoplazmie komórek mięsaszowych połączone było z obecnością takiego odczynu w komórkach Browicza-Kupffera, a w wielu wypadkach obserwowano całkowite zajęcie cytoplazmy komórek Browicza-Kupffera przez czynną fosfatyzę kwaśną.

Nie zauważono w przeprowadzonych badaniach żadnej zależności w rozmieszczeniu i aktywności fosfatyzu kwaśnego w odniesieniu do czasu trwania choroby. Rodzaje zmian anatomopatologicznych w poszczególnych przypadkach wrzodów żołądka i dwunastnicy wydają się odgrywać istotną rolę w rozmieszczeniu i aktywności fosfatyzu kwaśnego.

PIŚMIENNICTWO

1. Barka T.: *J. Histochem. Cytochem.* **10**, 231—232, 1962.
2. Beaufay H., Bendall D. S., Baudhuin P., Wattiaux R., de Duve C.: *Biochem. J.* **73**, 628—637, 1959.
3. Deams W., Rijsel G.: *J. Ultrastructure Res.* **5**, 263—290, 1961.
4. De Duve C.: *Subcellular Particles*, Ed. T. Hayashi, The Ronald Press, New York 1949.
5. De Man J. C. H., Deams W. T., Willinghamen R. G. J., van Rijsel T. G.: *J. Ultrastructure Res.* **4**, 43—48, 1960.
6. Edlund Y. A., Zettergren L. S. W.: *Acta Chir. Scand.* **113**, 201—210, 1957.
7. Godlewski H., Patzek T.: *Fol. Morphol.* **7**, 257—270, 1956.
8. Gruca S.: *Fol. Histochem. Cytochem.* **3**, 41—52, 1965.
9. Niemierko W.: *Fol. Morphol.* **11**, 177—199, 1960.
10. Novikoff A. B., Essner E.: *Am. J. Med.* **29**, 102—131, 1960.
11. Novikoff A. B.: *Fol. Morphol.* **14**, 275—279, 1962.
12. Novikoff A. B.: *The Cell*, Ed. J. Brachet, Acad. Press, New York and London 1961.
13. Wachstein M., Meisel E. E., Falcon C.: *Am. J. Path.* **2**, 219—232, 1962.
14. Vorbrodt A.: *Fol. Morphol.* **4**, 271—280, 1956.

Pracę otrzymano 10 XI 1965 r.

OBJAŚNIENIA RYCIN

Ryc. 1. Wycinek wątroby. Przypadek wrzodu żołądka. Zwiększona ilość lizosomów. Niektóre lizosomy przerosłe. Niewielki odczyn dyfuzyjny Fk w cytoplazmie komórek wątrobowych. W komórkach Browicza-Kupffera widoczne lizosomy z od-

czynem dyfuzyjnym Fk w cytoplazmie. Barwienie wg met. Gomoriego pH 5,4. Pow. ok. 380 ×.

Ryc. 2. Wycinek wątroby. Przypadek wrzodu żołądka. Bardzo duża ilość lizosomów. Niektóre lizosomy przerosłe. Część lizosomów posiada budowę zatartą z odczynem dyfuzyjnym Fk w cytoplazmie komórek wątrobowych. Widoczne komórki Browicza-Kupffera są prawie całkowicie wypełnione Fk. Barwienie wg met. Gomoriego. Pow. ok. 380 ×.

Ryc. 3. Wycinek wątroby. Przypadek wrzodu żołądka. Zwiększona ilość lizosomów. Wszystkie lizosomy wykazują cechy przerostu. Obecny jest duży odczyn dyfuzyjny Fk w cytoplazmie komórek wątrobowych. Komórki Browicza-Kupffera całkowicie wypełnione przez Fk. Barwienie wg met. Gomoriego. Pow. ok. 380 ×.

Размещение и активность фосфатазы в печени при язвах желудка и двенадцатиперстной кишки. I. Кислая фосфатаза

Резюме

Представлены результаты исследований размещения и активности фосфатазы в печени 20 больных язвой желудка или двенадцатиперстной кишки. Активность кислой фосфатазы в исследованных случаях увеличивалась.

В язвах, расположенных на передней стенке желудка, изменения в размещении и активности кислой фосфатазы были небольшие, тогда как в язвах на задней стенке желудка эти изменения были уже большими, а самые значительные изменения наблюдались в язвах, осложненных сужением привратника.

Рис. 1. Срез печени. Случай язвы желудка. Повышенное количество лизосомов. Некоторые лизосомы увеличены. Небольшая диффузионная реакция кислой фосфатазы в цитоплазме клеток печени. В купферовских клетках видны лизосомы с диффузионной реакцией кислой фосфатазы в цитоплазме. Окрашивание по Гомори. Увел. 380 ×.

Рис. 2. Срез печени. Случай язвы желудка. Очень большое количество лизосомов. Некоторые из них увеличены. Часть лизосомов имеет неясную структуру с диффузионной реакцией кислой фосфатазы в цитоплазме клеток печени. Видимые купферовские клетки почти заполнены кислой фосфатазой. Окрашивание по Гомори. Увел. 380 ×.

Рис. 3. Срез печени. Случай язвы желудка. Повышенное количество лизосомов. Все лизосомы увеличены. Большая диффузионная реакция кислой фосфатазы в цитоплазме клеток печени. Купферовские клетки полны кислой фосфатазой. Окрашивание по Гомори. Увел. 380 ×.

Distribution and Activity of Acid Phosphatase in the Liver of Patients Affected with Stomach and Duodenum Ulcers

Summary

The paper presents the results of investigations dealing with the distribution and activity of acid phosphatase in the liver of patients

suffering from stomach and duodenum ulcers. The activity of acid phosphatase with the patients examined was found mostly increased. The slightest disturbances in the distribution and activity of acid phosphatase were found with patients suffering from ulcers situated on the anterior wall of the stomach. Moderate disturbances were found with patients suffering from ulcers situated on the posterior wall of the stomach. The greatest disturbances were found when ulcers occurred jointly with pylorostenosis.

Fig. 1. Acid phosphatase reaction in the liver of a patient suffering from stomach ulcer. Increased number of lysosomes is observed, some of them showing hypertrophy. Small diffuse reaction of acid phosphatase is observed in the parenchyma cells. The lysosomes with diffuse reaction in the Browicz-Kupffer cells are observed to occur profusely. Staining according to the Gomori method, pH 5.4. Magn. about $\times 380$.

Fig. 2. Acid phosphatase reaction in the liver of a patient suffering from stomach ulcer. Numerous lysosomes, some of them hypertrophic, are observed in the liver parenchyma cells. Some lysosomes have obliterate structure with diffuse reaction of acid phosphatase in the liver parenchyma cells. The Browicz-Kupffer cells are nearly filled up with acid phosphatase. Staining according to the Gomori method, pH 5.4. Magn. about, $\times 380$.

Fig. 3. Acid phosphatase reaction in the liver of a patient suffering from stomach ulcer. Increased number of lysosomes, all of them showing hypertrophy. Considerable diffuse reaction is observed in the liver parenchyma cells. The Browicz-Kupffer cells are entirely filled up with acid phosphatase. Staining according to the Gomori method, pH 5.4. Magn. about, $\times 380$.



