

ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN—POLONIA

VOL. XXI, 11

SECTIO D

1966

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

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

Aleksander PAWŁOWSKI

Rozmieszczenie i aktywność fosfataz w wątrobie przy wrzodach żołądka i dwunastnicy. II. Adenozynotrójfosfataza, 5-nukleotydaza i fosfataza zasadowa

Phosphatase Distribution and Activity in the Liver Cells of Patients Suffering from Stomach and Duodenum Ulcers. II. Adenosinotriphosphatase, 5-Nucleotidase and Alkaline Phosphatase

Adenozynotrójfosfatazę wykrywano wg metody Wachsteina—Meisela (13). Jako substratu używano $ATPNa_2$ zobojętnionego do pH 7,2, zmieszanego z buforem Tris pH 7,2, azotanem ołowiu i chlorkiem magnezu. 5-nukleotydadę wykrywano wg metody Wachsteina—Meisela (13). Mieszanina substratowa składała się z kwasu adenilowego mięśniowego, buforu Tris pH 7,2, azotanu ołowiu i chlorku magnezu. Fosfatazę zasadową wykrywano wg metody Gomoriego (4, 15). Jako mieszaniny substratowej do wykrywania fosfatazy zasadowej używano β -glicero-fosforanu sodu, buforu barbiturowego o pH 9,2, chlorku wapnia i chlorku magnezu. Okres inkubacji wynosił 45 min. W dalszym etapie stosowano sposób kobaltowy. Poza tym fosfatazę zasadową oznaczano w wycinkach utrwalonych wg Bakera przez oziębianie ich i pokrojenie metodą zimnego noża. W tych przypadkach okres inkubacji wynosił 2 godziny. Jako kontrolę preparaty inkubowano bez substratu lub inaktywowano enzym w temperaturze 90°C przez 15 min. Wyniki oceniano przez porównywanie intensywności reakcji w tkance badanej z intensywnością użytą na standardzie.

BADANIA WŁASNE

W wątrobie u chorych z wrzodem żołądka lub dwunastnicy wykrywano zmiany w rozmieszczeniu i aktywności adenozynotrójfosfatazy, 5-nukleotydadzy i fosfatazy zasadowej.

Adenozynotrójfosfataza (ATP-aza)

Odczyn na ATP-azę umiejscowiony był przede wszystkim w kanałkach żółciowych i w śródbródkach naczyń. W komórkach nabłonka większych przewodów odczyn był słaby. Słaby odczyn na ATP-azę występo-

wał w najbardziej obwodowych częściach komórek i w ziarnistościach rozproszonych w cytoplazmie wokół kanalików żółciowych i w jądrach komórek. Dotyczyło to również obwodowej części zrazika.

W 5 przypadkach chorych z wrzodem żołądka lub dwunastnicy rozmieszczenie i nasilenie odczynu na **ATP-azę** odpowiadało grupie kontrolnej. Były to wrzody żołądka i dwunastnicy położone na ścianie przedniej lub tylnej, drażące i niedrażące do trzustki. Żaden z tych wrzodów nie był powikłany zwężeniem odźwiernika. Czas trwania choroby wynosił: 6 mies., 8 mies., 2, 3, 4 lata. U 6 chorych obserwowano niewielkie zmniejszenie aktywności **ATP-azy** w kanalikach żółciowych, bez zmniejszenia aktywności tego enzymu w śródbłónkach naczyń. Natomiast stwierdzono zupełny brak tego enzymu w cytoplazmie komórek wątrobowych. U chorych tych stwierdzało się różne wrzody, o różnym umiejscowieniu. W żadnym z tych przykładów nie stwierdzono zwężenia odźwiernika. Czas trwania choroby wynosił: 6 mies., 2, 3, 3, 3, 10 lat.

U 5 badanych chorych obserwowano zmniejszenie aktywności **ATP-azy** w kanalikach żółciowych i w śródbłónkach naczyń w średnim stopniu (ryc. 1). W tych przypadkach wrzody położone były w okolicy odźwiernika i powodowały zwężenie jego światła niewielkiego stopnia. Czas trwania choroby wynosił: 18 mies., 2, 5, 8 i 15 lat. U 4 badanych natomiast spotykano duże zmniejszenie aktywności **ATP-azy** w kanalikach żółciowych i w śródbłónkach naczyń. Byli to chorzy, u których wrzód żołądka lub dwunastnicy powikłany był zwężeniem odźwiernika znacznego stopnia. Czas trwania choroby wynosił: 3, 5, 7 i 9 lat.

5 - nukleotydaza (5-N)

5-N obserwowano w drobnych ziarnistościach w cytoplazmie komórek wątrobowych, zwłaszcza w jej obwodowych częściach i na obwodzie zrazika. Duży odczyn na 5-N można było zauważyć również w jądrach komórkowych, w kanalikach żółciowych i w śródbłónkach naczyń. Rozmieszczenie i nasilenie aktywności 5-N odpowiadające grupie kontrolnej obserwowano w 10 przypadkach wrzodów żołądka i dwunastnicy. Były to wrzody położone na ścianie przedniej lub tylnej, nie drażyły one do trzustki. W 3 przypadkach stwierdzono u tych chorych zwężenie odźwiernika. Czas trwania choroby wynosił: 6 mies., 8 mies., 9 mies., 2, 2, 3, 3, 6, 9 i 12 lat. W 8 przypadkach wykrywano 5-N rozmieszczoną w drobnych ziarnistościach, a tylko małe ilości tego enzymu obserwowano w najbardziej obwodowych częściach komórki, w kanalikach żółciowych i w śródbłónkach naczyń. Wrzody w tych przypadkach umiejscowione były w okolicy odźwiernika. W 7 przypadkach wrzody drażyły do trzustki, a w 3 powodowały zwężenie odźwiernika dużego stopnia. Czas trwania choroby u tych chorych wynosił: 3, 3, 7, 4, 9, 10 i 15 lat.

W 2 przypadkach 5-N rozmieszczona była w ziarnistościach, w śród-błonkach i w kanalikach żółciowych. W cytoplazmie komórek wątrobowych 5-N występowała w małej ilości (ryc. 2). Były to przypadki wrzodów położone na krzywiznie małej w połowie trzonu i w okolicy odźwiernika. Obydwa wrzody drążyły głęboko w trzustkę. Czas trwania choroby w tych przypadkach wynosił: 2 i 10 lat.

Fosfataza zasadowa (ALP-aza)

Aktywność fosfatazy zasadowej w badanych przypadkach była mała. Fosfataza zasadowa rozmieszczona była w cytoplazmie komórek wątrobowych, w komórkach Browicza—Kupffera i w nabłonku drobnych kanalików żółciowych. W obwodowych częściach zrazika odczyn na ALP-azę był silniejszy niż w jego częściach środkowych. Nasilenie aktywności i rozmieszczenie ALP-azy odpowiadające grupie kontrolnej obserwowano w 4 przypadkach. Dotyczyły one chorych z wrzodami w okolicy odźwiernika bez zwężenia jego światła. W 1 przypadku wrzód drążył do trzustki. Czas trwania choroby w tych przypadkach wynosił: 9 mies., 3 i 4 lata.

Niewielkie zmniejszenie aktywności ALP-azy w cytoplazmie komórek wątrobowych i zupełny brak tego enzymu w kanalikach żółciowych spotykano w 9 przypadkach (ryc. 3). Wrzody te położone były na ścianie przedniej lub tylnej. Dwa przypadki tych wrzodów powikłane były zwężeniem odźwiernika nieznaczного stopnia. Czas trwania choroby wynosił: 6 mies., 8 mies., 9 mies., 2, 3, 4, 5, 10 i 15 lat. Większe zmniejszenie aktywności ALP-azy w cytoplazmie komórek wątrobowych i zupełny brak w kanalikach żółciowych obserwowano w 7 przypadkach wrzodu żołądka i dwunastnicy. U wszystkich tych chorych stwierdzono zwężenie światła odźwiernika znacznego stopnia. Czas trwania choroby wynosił: 18 mies., 2, 3, 5, 7, 8 i 9 lat.

OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ

Jedną z zasadniczych czynności komórki wątrobowej jest zdolność odkładania glikogenu w cytoplazmie i zdolność glikogenolizy, tj. przemiany glikogenu w glikozę oddawaną do krwi. Hayes i Brandt (5) uważają, że rozpad w wątrobie dokonuje się przez fazy pośrednie z powstaniem związków zawierających fosfor przy czym obniżenie poziomu fosforu po operacji wynosi około 26%. Sokół i wsp. (11) analizując zjawisko zmniejszenia się glikogenu w wątrobie w czasie operacji i poziomu fosforu we krwi po operacji, zadają pytanie, „czy fosfatazy stoją w jakimkolwiek związku z glikogenolizą śródoperacyjną”. Autorzy nie dają odpowiedzi na to pytanie. Fortak (3) nie obserwował wpływu zabiegu operacyjnego na wyniki badań

histochemicznych fosfataz w wątrobie. Podaje on, że wykonanie operacji u zwierząt kontrolnych nie wywołuje w mięszu wątrobowym uchwytanych zmian, wpływających na wyniki badań histochemicznych. W badaniach własnych, przeprowadzonych na 10 wycinkach pobieranych bezpośrednio po otwarciu jamy brzusznej i po 50 min. (u tych samych chorych) nie stwierdzono żadnych różnic w rozmieszczeniu i aktywności fosfataz.

Choroba wrzodowa żołądka i dwunastnicy wywołuje zmiany morfologiczne w mięszu wątroby. Zmiany takie obserwowali *Matteer* i wsp. (6) i były one również dostrzegalne w naszych preparatach przeglądowych, barwionych hematoksyliną i eozyną. W takich preparatach obserwowano wokół naczyń nacieki drobno-okrągło-komórkowe, a w centralnych obszarach zrazików zwyrodnienie tłuszczowe. Budowa samych zrazików była bardzo różna; czasami przestrzenie międzyzrazikowe zredukowane były do minimum, niekiedy były szerokie, a naczynia w nich przebiegające zawierały elementy morfotyczne krwi.

Większe ilości tłuszczu stwierdzone w komórkach w środkowej części zrazika w porównaniu z obszarami obwodowymi i większe ilości glikogenu na obwodzie zrazika obserwowane były przez *Novikoffa* (8) i *Shank*a (12). Badacze ci przekonali się, że w obszarach obwodowych zrazika występuje najwyższa aktywność enzymów biorących udział w przemianie węglowodanów i syntezie ciał białkowych. Jak podaje *Shank*, komórki obszarów obwodowych zrazika są genetycznie najmłodsze z pozostałych komórek wątroby i wykazują duże nagromadzenie kwasu rybonukleinowego (**RNA**) i kwasu dezoksyrybonukleinowego (**DNA**), co potwierdza również *Fortak* (3).

Jeżeli przyjmiemy, że **ALP-aza**, **ACP-aza** i **ATP-aza** wiążą się ze wzmożoną syntezą białek w cytoplazmie komórek — oprócz znanego metabolizmu związanego z fosforylacją (16) — to aktywność w tym terenie będzie najwyższa.

Obszary środkowe zrazika, biorące większy udział w przemianach tłuszczowych, wykazują niski poziom polimeryzacji **DNA** i małą zawartość **RNA** oraz małą aktywność enzymatyczną **ATP-azy**, **ALP-azy** i **5-N** (3). Istotnym faktem stwierdzanym w badaniach własnych jest obniżenie aktywności **ATP-azy**, **5-N** i **ALP-azy** w komórkach wątrobowych w przypadkach wrzodów i dwunastnicy. Odczyn ten zmniejszał się wyraźnie lub całkowicie zanikał w przypadkach wrzodów żołądka i dwunastnicy powikłanych zwężeniem odźwiernika. Dowodzi to wielu zaburzeń biochemicznych w komórce wątrobowej. Zachowanie bowiem prawidłowych ilości **ALP-azy** w komórce świadczy o czynnym stanie tej komórki (1).

Dubets i *Nad* (2) i *Proscher* i *Wagner* (9) badali histologicznie wycinki wątroby chorych z wrzodem żołądka i dwunastnicy

i stwierdzili w nich zmiany mięsaszowe o charakterze nacieczenia zapalnego. *Matter* i wsp. (6) spotykali takie zmiany w 93%, a *Sokół* i wsp. (11) zauważyli szczególnie ciężkie uszkodzenie mięszu wątroby w kurczu odźwiernika.

Stwierdzenie zmian zapalnych mięszu wątroby tych chorych okazuje się bardzo istotne przy badaniach histochemicznych fosfatyz. Zauważono bowiem, że w przebiegu zmian zapalnych wątroby **ALP-azę** wykrywa się w śródbłónkach naczyń i komórkach wątrobowych, a zupełny jest brak tego enzymu w kanalikach żółciowych (10). Te spostrzeżenia potwierdzono w badaniach własnych. Obserwowano również zmiany zapalne mięszu wątroby i brak **ALP-azy** w kanalikach żółciowych.

Badane przeze mnie przypadki wrzodów żołądka i dwunastnicy wykazywały zmniejszenie aktywności **5-N**, **ATP-azy** i **ALP-azy** w wątrobie. Podobne zmniejszenie aktywności tych enzymów stwierdzili również *Wachstein* i wsp. (14) dokonując chemicznego lub infekcyjnego uszkodzenia czynności wątroby. Jeżeli przyjąć za *Vorbrottem*, że **ATP-aza** i **5-N** występują w mitochondriach, mikrosomach i jądrach komórek (17) to stwierdzone zmniejszenie aktywności **5-N**, **ATP-azy** i **ALP-azy** w komórkach wątrobowych przy wrzodach żołądka i dwunastnicy nabiera szczególnego znaczenia przy rozpatrywaniu czynności wątroby. *Novikoff* (7) uważa bowiem, że mitochondria komórek wątrobowych biorą udział w regulacji gospodarki wodnej i elektrolitowej komórki. Sądzi on, że mitochondria są bazą enzymów biorących udział w czynnościach absorpcyjnych i wydzielniczych komórki. Potwierdzają to jego zdaniem metody barwienia wykazujące na błonach mitochondrialnych wysoką aktywność **ATP-azy**. *Novikoff* przyjmuje za *Kennedym* i *McMurrym* oraz *Batosem*, że w mitochondriach dochodzi do syntezy fosfatydów i że odbywa się tu synteza białek. Dodaje również, że mitochondria nie odgrywają wyłącznej roli w syntezie fosfatydów, bo jest możliwe, że taka synteza zachodzi także w mikrosomach (7). Podnosi także, że w procesach oddychania biorą udział wysoko energetyczne fosforany, gdzie **ADP** jest akceptorem tych cząsteczek.

Zastosowanie metod histochemicznych do wykazania w wycinkach wątroby **ALP-azy**, **ATP-azy** i **5-N** oraz dokładna analiza otrzymanych wyników upoważniają do postawienia następujących wniosków:

U chorych przeznaczonych do zabiegów operacyjnych z powodu wrzodu żołądka lub dwunastnicy istniały zaburzenia w rozmieszczeniu i aktywności fosfatazy zasadowej, adenozyntroójfosfatazy i 5-nukleotydazy.

Czas trwania choroby nie wpływał na zmiany w rozmieszczeniu i aktywności fosfatyz.

PISMIENICTWO

1. Crane R. K., Miller D., Bilher J.: Membrane Transport and Metabolism. Symposia C.S.A.V., Praha 1961.
2. Dubets S., Nad T.: Wiestnik Chirurgii 9, 53—57, 1962.
3. Fortak W.: Badania histologiczne i histochemiczne dotyczące źródeł i dróg regeneracji wątroby u białych szczurów. Łódzkie Tow. Nauk. Wydz. IV, 1961.
4. Gomori G.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 42, 23—26, 1939.
5. Hayes M. A., Brand R. L.: Surgery, 32, 819—827, 1952.
6. Matteer J. G., Hartman F. W., Boltz J. I., Fallis L. D., Mac Graw A., Steele H. H.: Gastroenterology 11, 283—302, 1948.
7. Novikoff A. B.: In The Cell. Ed. J. Brachet, Academic Press, New York and London 1961.
8. Novikoff A. B.: Histochem. Cytochem. 7, 240—244, 1959.
9. Proscher H., Wagner S.: Zbl. Chir. 36, 1472—1479, 1959.
10. Batko B., Frydel Z., Grzybowski K.: Wiad. Lek. 15, 821—826, 1962.
11. Sokół S., Śmiechowska W., Zegarska Z.: Pol. Przegl. Chir. 33, 1327—1338, 1962.
12. Shank R. E., Morrison G., Cheng C. H., Karl J., Schwartz R.: Histochem. 7, 237—240, 1959.
13. Wachstein M., Meisel E. E.: Am. J. Clin. Path. 27, 13—26, 1957.
14. Wachstein M., Meisel E. E., Falcon C.: Am. J. Path. 2, 219—232, 1962.
15. Vorbrodt A.: Fol. Morphol. 4, 271—280, 1956.
16. Vorbrodt A.: Post. Hig. Med. Dośw. 13, 200—207, 1959.
17. Vorbrodt A.: Fol. Morphol. 4, 313—318, 1956.

Pracę otrzymano 10 XI 1965 r.

OBJAŚNIENIA RYCIN

Ryc. 1. Wycinek wątroby. Przypadek wrzodu żołądka. ATP-aza rozmieszczona w kanalikach żółciowych. Zmniejszenie aktywności ATP-azy w średnim stopniu. Barwienie wg met. Wachstein—Meisel. Pow. ok. 380 ×.

Ryc. 2. Wycinek wątroby. Przypadek wrzodu żołądka. 5-nukleotydaza rozmieszczona w ziarnistościach i w nieco mniejszym stopniu w cytoplazmie komórek wątrobowych, w najbardziej obwodowych częściach komórki, w kanalikach żółciowych i w śródbłonkach naczyń. Barwienie wg met. Wachstein—Meisel. Pow. ok. 380 ×.

Ryc. 3. Wycinek wątroby. Przypadek wrzodu żołądka. Zmniejszenie aktywności fosfatazy zasadowej. Barwienie wg met. Gomoriego. Pow. ok. 380 ×.

Размещение и активность фосфатазы в печени при язвах желудка и двенадцатиперстной кишки. II. Аденозинотрифосфатаза, 5-нуклеотидаза и щелочная фосфатаза

Резюме

Аденозинотрифосфатаза, 5-нуклеотидаза и щелочная фосфатаза проявляют тенденцию к уменьшению активности в печени больных яз-

вой желудка или двенадцатиперстной кишки. Чаще всего изменения в фосфатазе обнаруживали у тех больных, у которых язва углублялась в направлении поджелудочной железы или служила причиной сужения привратника.

Рис. 1. Срез печени. Случай язвы желудка. Аденозинотрифосфатаза находится в желчных каналах. Среднее уменьшение активности. Окрашивание по Вахштейну-Мейзелю. Увел. 380 X.

Рис. 2. Срез печени. Случай язвы желудка. 5-Нуклеотидаза размещена в зернистостях. Небольшое количество 5-нуклеотидазы, видимое в цитоплазме клеток печени, периферических частях клеток, желчных каналах и в эпителиях сосудов. Окрашивание по Вахштейну-Мейзелю. Увел. 380 X.

Рис. 3. Срез печени. Случай язвы желудка. Уменьшение активности щелочной фосфатазы. Окрашивание по Гомори. Увел. 380 X.

Phosphatase Distribution and Activity in the Liver Cells of Patients Suffering from Stomach and Duodenum Ulcers.

II. Adenosinotriphosphatase, 5-Nucleotidase and Alkaline Phosphatase

Summary

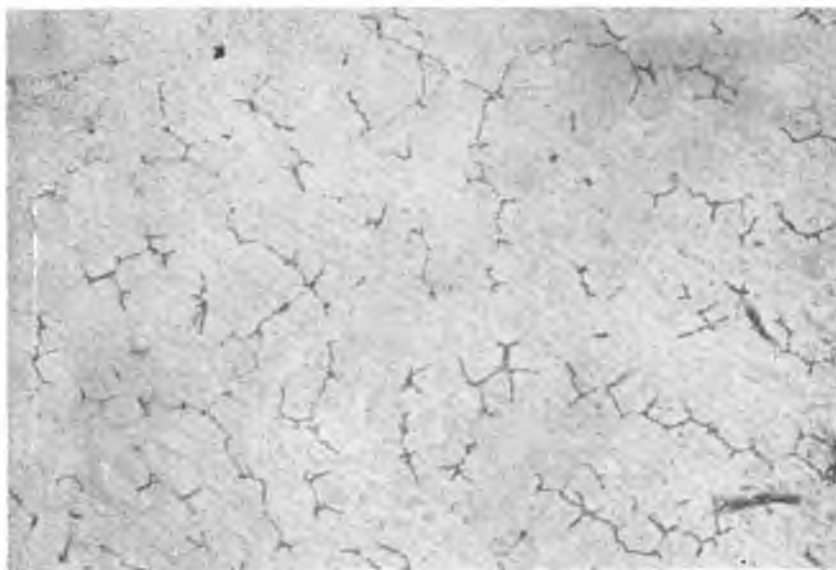
A decrease in the activity of adenosinotriphosphatase, 5-nukleotidase and alkaline phosphatase in the liver was observed with patients suffering from stomach and duodenum ulcers. Variations in the distribution and activity of phosphatase in the liver were observed if ulcers were found to enter pancreas so as to harm it, or if they caused pyloristhenosis.

EXPLANATION OF FIGURES

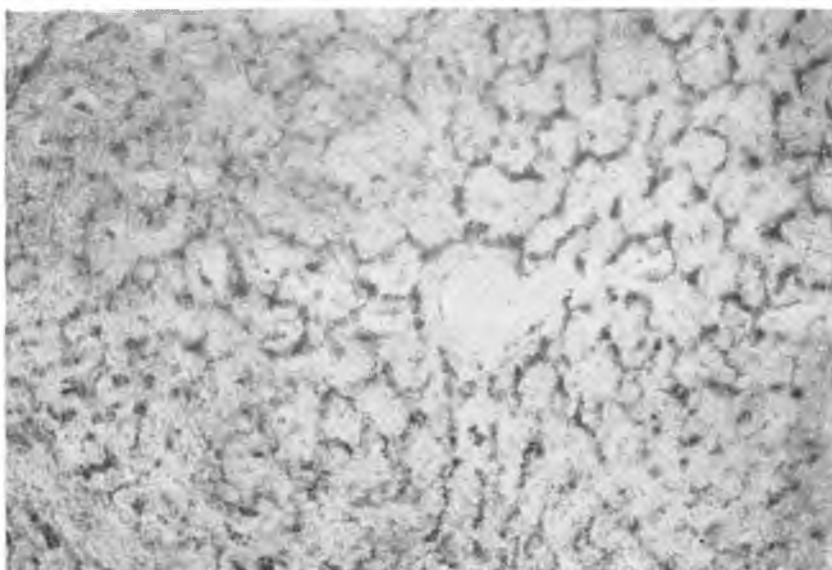
Fig. 1. Liver section. Stomach ulcer. Adenosinotriphosphatase in the biliary canals. A moderate decrease in the activity of adenosinophosphatase. Staining according to Wachstein and Meisel's method. Magn. about. X 380.

Fig. 2. Liver section. Stomach ulcer. 5-nucleotidase located in granulations; small amount in the cells of the liver parenchyma, in the peripheral parts of cells, in the biliary canaliculi and in the endothelium of the vessels. Magn. about X 380.

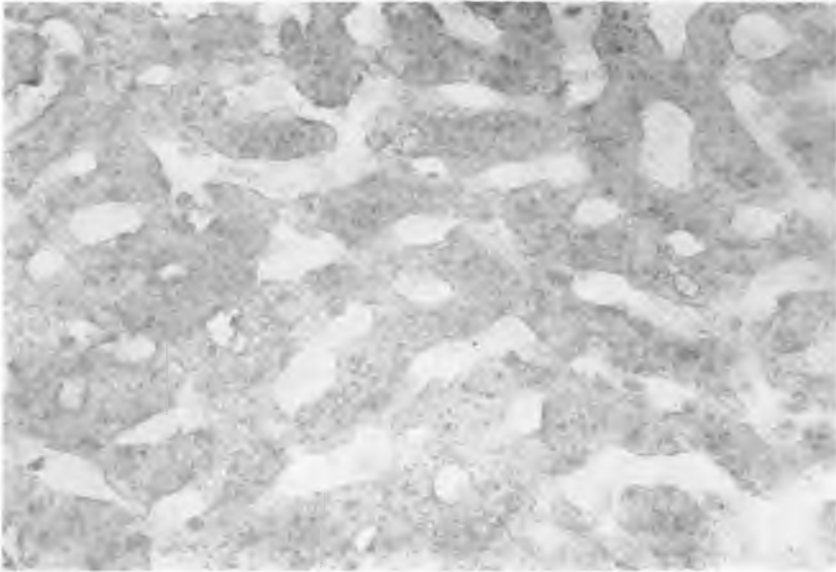
Fig. 3. Liver section. Stomach ulcer. A decrease in the activity of alkaline phosphatase. Staining according to the Gomori method. Magn. about X 380.



Ryc. 1



Ryc. 2



Ryc. 3