

ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN—POLONIA

VOL. XXI, 8

SECTIO D

1966

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

Irena KRÓLIKOWSKA-PRASAŁ

**Badania histochemiczne enzymów hydrolitycznych w komórkach
wątroby chomika syryjskiego (*Mesocricetus auratus*)**

Histochemical Investigations of Hydrolytic Enzymes in the Liver of the Syrian
Hamster (*Mesocricetus auratus*)

Wpływ cholamidu na niektóre enzymy hydrolityczne w zdrowej (nie zmienionej chorobowo) tkance wątrobowej chomika syryjskiego był przez nas poddany histochemicznej analizie. Cholamid (Polfa), *hydroxymethylamidum acidi nicotinic*, lek powszechnie używany w stanach chorobowych wątroby, oprócz działania żółciopędnego ma wpływ na komórki mięszu wątrobowego (2).

Do badań użyto 14 dziesięciomiesięcznych samców chomików syryjskich (*Mesocricetus auratus*) wagi ca 150 g. Zwierzęta przetrzymywano w jednakowych warunkach otoczenia i żywiono dietą: wafle i mleko. Podzielono je na 2 grupy: kontrolną (5 szt.) i doświadczalną (9 szt.), która otrzymała z pokarmem cholamid w dawce po 0,025 g dziennie przez 2 miesiące. Wycinki pobierano zawsze z prawego płata wątroby między godziną 10 a 11 przed południem, jedne utrwalano w płynie Bakera w temp. 4°C w czasie 24 godz., a drugie w płynie Carnoy w ciągu 3 godz. Pierwsze krajano na mikrotomie mrozeniowym, a następnie poddawano inkubacji. Fosfatazy kwaśną i zasadową (Fk, Fz) wykrywano wg metody Gomoriego stosując różne optimum pH (1). Odczyn na adenozynotrójfosfatazę (ATP-aza) wykonywano posługując się metodą Wachsteina i Meisela (7), natomiast aktywność pirofosfatazy tiaminowej (TPP-aza) wykrywano wg Novikoffa i Goldfischera (6). Skrawki utrwalone w płynie Carnoy barwiono hematoksyliną i eozyzną.

BADANIA WŁASNE

Obserwując na preparatach barwionych hematoksyliną i eozyzną komórki wątrobowe chomików, którym podawano cholamid przez okres 2 miesięcy, nie stwierdzono w nich zmian morfotycznych. Natomiast badania histochemiczne enzymów hydrolitycznych (Fz, Fk, ATP-aza, TPP-aza) w komórkach wątrobowych zwierząt doświadczalnych po-

zwolili zauważyć w porównaniu z wątrobą kontrolną niewielkie zmiany w umiejscowieniu i aktywności enzymów.

1. Fosfataza kwaśna (**Fk**)

Fosfataza kwaśna w komórkach wątrobowych chomików kontrolnych występowała w postaci cytoplazmatycznych ziarnistości (lizosomów) wzdłuż kanalików żółciowych oraz w pobliżu jądra. Wyraźną aktywność **Fk** obserwowano również w komórkach Browicza-Kupffera. W komórkach wątrobowych zwierząt doświadczalnych umiejscowienie **Fk** nie ulegało wyraźnym zmianom, natomiast widoczny był wzrost jej aktywności szczególnie w pobliżu kanalików żółciowych. Na niektórych preparatach obserwowano nieswoisty odczyn na błonach jądrowych (ryc. 1).

2. Fosfataza zasadowa (**Fz**)

W wątrobie zwierząt kontrolnych odczyn na **Fz** występował w ścianach naczyń krwionośnych oraz w ścianach kanalików żółciowych śródzrazikowych. Natomiast w cytoplazmie komórek odczyn był bardzo słaby, brak odczynu w jądrach. U zwierząt doświadczalnych nie obserwowano zarówno widocznych zmian aktywności **Fz**, jak i jej rozmieszczenia w obrębie zrazika (ryc. 2).

3. Adenozynotrójfosfataza (**ATP-aza**)

W komórkach wątrobowych zwierząt kontrolnych odczyn na **ATP-azę** występował przede wszystkim w ściankach kanalików żółciowych. Jądra komórkowe nie wykazywały żadnego odczynu (ryc. 3). U zwierząt doświadczalnych nie obserwowano zmian zarówno w umiejscowieniu, jak i aktywności tego enzymu. Najbardziej intensywne odczyny występowały w ściankach kanalików żółciowych.

4. Pirofosfataza tiaminowa (**TPP-aza**)

U zwierząt kontrolnych odczyn aktywności **TPP-azy** obserwowany był przede wszystkim w ściankach kanalików żółciowych, natomiast w środkowej części cytoplazmy komórki odczyn był bardzo słaby (ryc. 4). Wzrost aktywności **TPP-azy** obserwowano u zwierząt doświadczalnych w cytoplazmie komórek wątrobowych oraz w ściankach kanalików.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

W a r c h o ł (8) badając zmiany histochemiczne komórek wątrobowych po podwiązaniu wspólnego przewodu żółciowego, obserwuje intensywny odczyn na **Fk** i **Fz**, częściowo na dehydrogenazę mlekową. Ziarna bogate w **Fk** zostają przesuwane na obwód komórki w pobliżu kanalików żółciowych. Najwyraźniejsze zmiany obserwowano w komórkach leżących na obwodzie zrazika, słabsze w pobliżu żyły środkowej.

Novikoff (4, 5) wykazuje wzrost stężenia **Fk** po podwiązaniu przewodu żółciowego w komórkach wątrobowych. Miętkiewski i wsp. (3) przeprowadzając badania histochemiczne nad wpływem insuliny na komórki wątrobowe w przebiegu marskości wątroby, wskazują na zwiększenie aktywności **Fz**, dehydrogenazy kwasu mlekowego, bursztynowego i glikozo-6-fosforanu. Obserwują również wzrost aktywności **Fk** i przypuszczają, że dochodzi do pęcznienia i pęknięcia osłonek lizosomów.

W naszych doświadczeniach nad wpływem cholamidu na zachowanie się enzymów hydrolitycznych w nie zmienionej chorobowo tkance wątrobowej chomika nie zauważono żadnych zmian strukturalnych. Aktywność **Fz** i **ATP-azy** nie wykazała różnic zarówno pod względem stężenia odczynu, jak i umiejscowienia. Niewielkie zmiany zauważono w przypadku aktywności **Fk** i **TPP-azy**, która wzrastała w pobliżu kanalików żółciowych. Nie należy sądzić, że są to zaburzenia w metabolizmie wewnątrzkomórkowym, lecz chwilowy stan komórki wywołany dodatkowymi czynnikami (cholamid), działającymi przez dłuższy okres czasu na ustrój. Zwiększenie stężenia **Fk** i **TPP-azy** w pobliżu kanalików żółciowych może wskazywać na rolę tych enzymów w wydzielaniu żółci.

Na podstawie przeprowadzonych obserwacji należy sądzić, że:

1. Aktywność **Fz** i **ATP-azy** nie ulega żadnym zmianom i to zarówno pod względem umiejscowienia, jak i stężenia tych enzymów.
2. Obserwowany, nieznaczny wzrost aktywności **Fk** i **TPP-azy** w pobliżu kanalików żółciowych związany jest prawdopodobnie z udziałem tych enzymów w procesie wydzielniczym komórki.

PIŚMIENICTWO

1. Gomori C.; Microscopic Histochemistry, The University of Chicago Press, (Chicago) 1953.
2. Łogucki S.: Spostrzeżenia kliniczne nad cholamidem. Biul. Infor. Centr. Zarz. Aptek 8, 175—179, 1958.
3. Miętkiewski K., Kopaczyk F., Warchoń J.: Folia Morph. 14, 357—374, 1964.
4. Novikoff A. B.: Lysosomes and Related Particles. [in] "The Cell", ed. Brachet J; Mirsky A. E. Academic Press, New York 2, 423—488, 1961.
5. Novikoff A. B., Essner E.: Am. J. Med., 29, 102—131, 1960.
6. Novikoff A. B., Goldfischer S.: Proc. Natl. Acad. Sci., 47, 802—810, 1961.
7. Wachstein M., Meisel E.: Am. J. Clin. Path., 27, 12—23, 1957.
8. Warchoń J. B.: Folia Histochem. Cytochem. 1, 235—245, 1963.

Pracę otrzymano 15 III 1966.

OBJAŚNIENIA RYCIN

Rys. 1. Aktywność fosfatazy kwaśnej w komórkach wątrobowych chomika po podaniu cholamidu. Metoda Gomoriego. Mikroskop Lumipan C. Zeiss (Jena), okular 15 ×, obiektyw 40 ×.

Rys. 2. Odczyn fosfatazy zasadowej w wątrobie zwierząt kontrolnych. Metoda Gomoriego. Mikroskop Lumipan C. Zeiss (Jena), okular 15 ×, obiektyw 40 ×.

Rys. 3. Odczyn ATP-azy w wątrobie zwierząt kontrolnych. Metoda Wachstein i Meisel. Mikroskop Lumipan C. Zeiss (Jena), okular 15 ×, obiektyw 60 ×.

Rys. 4. Odczyn TPP-azy w wazakach wątrobowych zwierząt kontrolnych. Metoda Novikoffa i Goldfishera. Mikroskop Lumipan C. Zeiss (Jena), okular 15 ×, obiektyw 60 ×.

Гистохимические исследования гидролазов в клетках печени хомяка

Резюме

Исследована активность гидролитических энзимов (кислая фосфатаза, щелочная фосфатаза, тиаминовая пирофосфатаза, АТФ-аза) в клетках печени хомяка. Контрольные животные получали голямид каждые два месяца в дозе 0,025 г на день.

Опыты показали, что под влиянием голямида активность кислой фосфатазы и тиаминовой пирофосфатазы увеличивается. Активность остальных энзимов не меняется.

Рис. 1. Активность кислой фосфатазы в клетках печени хомяка, получившего голямид. Метод Гомори. Микроскоп Люмипан Цейс (Иена), объектив 40 ×, окуляр 15 ×. Микрофото Practina Fx.

Рис. 2. Активность щелочной фосфатазы в клетках печени хомяка. Метод Гомори. Микроскоп Люмипан Цейс (Иена), объектив 40 ×, окуляр 15 ×. Микрофото Practina Fx.

Рис. 3. Активность АТФ-азы в клетках печени хомяка. Метод Вахстейна и Мейселя. Микроскоп Люмипан Цейс (Иена), объектив 60 ×, окуляр 15 ×. Микрофото Practina Fx.

Рис. 4. Активность тиаминовой пирофосфатазы в дольках печени хомяка. Метод Новикова и Гольдфисера. Микроскоп Люмипан Цейс (Иена), объектив 60 ×, окуляр 15 ×. Микрофото Practina Fx.

Histochemical Investigations of Hydrolytic Enzymes in the Liver of the Syrian Hamster (*Mesocricetus auratus*)

Summary

The author describes the behaviour of hydrolytic enzymes (acid phosphatase, alkaline phosphatase, ATPase and TPPase) in the liver cells of the Syrian hamster after the animals were orally given cholamid in a daily dose of 0.025 g. for 2 months.

Histochemical investigations did not reveal any changes in the localization and activity of alkaline phosphatase and ATPase in the liver cells of those animals. However, a slight increase in the activity of acid phosphatase and TPPase was observed in the vicinity of the bile canalicules.

Fig. 1. Acid phosphatase reaction in the liver cells of the hamster following the oral administration of cholamid to the animals. Gomori method. Microscope Lumipan C. Zeiss (Jena): ocular 15 ×, objective 40 ×.

Fig. 2. Alkaline phosphatase activity in control material. Gomori method. Microscope Lumipan C. Zeiss (Jena), ocular 15 ×, objective 40 ×.

Fig. 3. ATPase in the hepatic lobule of the control animals. Wachstein and Meisel method. Microscope Lumipan C. Zeiss (Jena), ocular 15 ×, objective 60 ×.

Fig. 4. TPPase in the hepatic lobule of the control animals. Novikoff and Goldfischer method. Microscope Lumipan C. Zeiss (Jena), ocular 15 ×, objective 60 ×.



