

ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN—POLONIA

VOL. XXIV, 39

SECTIO D

1969

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

Grażyna RZESZOWSKA-TOKARSKA

**Observacje histochemiczne nad aktywnością enzymów hydrolitycznych
w szyszynce szczurów w różnych okresach ciąży**

Гистохимические наблюдения активности гидролитических энзимов
в эпифизе крыс в разные периоды беременности

Observations histochimiques de l'activité des enzymes hydrolytiques dans la
glande pinéale chez les rats dans les diverses périodes de grossesse

Badania histochemiczne szyszynki w warunkach prawidłowych i odbiegających od normy są bardzo nieliczne. Wurtman (60) wykazał w szyszynce ludzkiej obecność hydroksy-indolo-o-metylo-transferazy, oksydazy monoaminowej, histamino-trans-metylo-transferazy i nie stwierdził żadnej korelacji między wiekiem a aktywnością enzymów. Dastuque, Thiéblot i wsp. (11) badając biochemicznie szyszynkę barana zwrócili uwagę na występowanie w niej m. in. fosfatazy zasadowej, fosfatazy kwaśnej, 5-nukleotyduazy, leucyno-aminopeptyduazy i adenozynotrójfosfatazy. Abe i wsp. (1) opisali wysoką aktywność dehydrogenazy glikozo-6-fosforanowej w pineocytach, natomiast nie znaleźli jej w tkance podścieliskowej. Może to świadczyć o intensywnym metabolizmie komórek szyszynkowych, ponieważ dehydrogenaza glikozo-6-fosforanowa, reprezentując tlenową drogę przemiany materii dostarcza rybozo-5-P do biosyntezy szeregu substancji m. in. kwasów nukleinowych.

Szyszynka jest narządem żywo reagującym zarówno na bodźce z zewnątrz, jak i na wewnątrzustrojowe. Miline i wsp. (38) stwierdzili w pineocytach zmiany wsteczne w postaci zmniejszenia się jąder, jeśli zwierzęciu dostarczy się silnych podnień węchowych. Quay (47, 48), Fiske i wsp. (16), Miline i wsp. (37), De Martino i wsp. (12) poddawali szczury działaniu ciągłego światła i w wyniku doświadczenia zmniejszała się waga szyszynki, spadała zawartość lipidów, serotoniny, dehydrogenazy kwasu bursztynowego, glikogenu, osłabiała się zdolność pobierania fosforu ³²P, jak również występowały zmiany zwyrodniające w jądrach i jąderkach. Gusek i Buss (21) wstrzykując szczurom różne dawki prolanu wywołali uaktywnienie organoidów komórkowych, co wyrażało się zwiększeniem liczby mitochondriów i struktur Golgiego. Thiéblot i wsp. (55, 56) podawali samicom szczurów hormony gonadotropowe i obserwowali w pineocytach jednolite struktury eozynochłonne, jednak nie wypowiedzieli się, czy są one wyrazem zwiększonej czy zmniejszonej czynności gruczołu. Zweens (65) ustalił, że w czasie

cyklu rujowego najniższa liczba lipidów w pineocytach jest tuż przed owulacją, wzrasta po owulacji i dochodzi do maksimum w okresie międzyrujowym. Hungenford i wsp. (25) stwierdzili, że zawartość lipidów w szyszynce obniża się po wycięciu przysadki mózgowej, a tyroksyna, testosteron i adrenalina nie powodują zmian.

Badania związane z wpływem ciąży na zachowanie się szyszynki są nieliczne i niejednokrotnie kontrowersyjne. Bargmann (4) podał, że na podstawie dotychczasowych danych morfologicznych trudno jest wykazać czy ciąża wywołuje zmiany w kierunku uwstecznienia się szyszynki, czy pobudza jej czynność lub może pozostaje bez wpływu; np. u świnek morskich i u królików obserwowano objawy pobudzenia gruczołu, a u szczuryc nie zauważono żadnych zmian.

Na tle doniesień, świadczących o intensywnej przemianie materii pineocytów, o ich wrażliwości i reaktywności na działanie różnych czynników oraz wielokierunkowym zróżnicowaniu funkcjonalnym uważa się za celowe przebadanie fragmentu metabolizmu komórkowego na przykładzie aktywności wybranych enzymów hydrolitycznych w przebiegu ciąży. W mechanizmie regulacji enzymatycznej doniosłą rolę odgrywają hormony, które mogą zmniejszać lub zwiększać ich aktywność (Szymona 54, Lerner 32). W ciąży następują zmiany rytmu pracy gruczołów o wewnętrznym wydzielaniu, można więc również spodziewać się reakcji ze strony szyszynki.

MATERIAŁ I METODYKA BADAŃ

Badania przeprowadzono na 200 samicach szczurów białych z własnej hodowli Zakładu. Zwierzęta przebywały w stałych pomieszczeniach, dobrze wietrzonych o temp. ok. 18°C., z prawidłowym dopływem światła dziennego. Otrzymywały mleko, jarzyny oraz mieszankę wg Kowalewskiego o składzie: owies 10,0 g, proso 5,0 g, jęczmień 2,0 g, drożdże 1,0 g, słonecznik 2,0 g. Postępowanie ze zwierzętami było łagodne, nie budzące w nich lęku. Wybrano samice młode, wagi od 150 do 220 g, które nie rodziły lub rodziły jeden raz. U samic z naszej hodowli okres ciąży w przeważającej liczbie przypadków wynosił 22 dni. Dekapitowanym zwierzętom pobierano szyszynkę, którą przemywano w roztworze soli fizjologicznej dla ciepłokrwistych i każdorazowo ważono. Wyodrębniono grupy: kontrolną (38 samic) i 6 doświadczalnych (27 samic w każdej). W grupie kontrolnej dobierano zwierzęta w ten sposób, żeby wszystkie znajdowały się w jednym okresie rujowym, a mianowicie w fazie spokoju płciowego, co ustalono przy pomocy rozmazów pochwowych. W grupie doświadczalnej pobierano materiał 7, 10, 13, 16, 19, 22 dnia ciąży. W ostatniej czyli VI grupie doświadczalnej wielokrotnie wypreparowywano szyszynkę w kilka minut po porodzie. Materiał utrwalono w mieszaninie alkoholu 95% i formolu obojętnego w stosunku objętościowym 9:1, w formolu obojętnym 4% i 10%. Wykonywano preparaty przeglądowe, zarówno na skrawkach parafinowych jak i na mrożonych (mikrotom Spencer Lens Co. U.S.A.), starając się, żeby zawsze były cięte w płaszczyźnie horyzontalnej. Barwiono wg metody Hortegi, hematoksyliną Mayera i eozyną, tylko hematoksyliną, tylko eozyną, błękitem toluidyny przy pH 5,4, 6,8, 7,8 błękitem alcjanowym, a dla uwidocznienia lipidów wg metody Ciaccio dla skrawków parafinowych i czerwienią tłuszczową Oil Red O dla skrawków mrożonych. Poza hematoksyliną i eozyną wymienione barwienia wykonano celem dokładniejszego zobrazowania budowy szyszynki szczurów białych, natomiast nie powtarzano ich w toku doświadczenia. Barwienie hematoksyliną i eozyną wykonywano przy każdej badanej grupie.

Enzymy hydrolityczne wykrywano na skrawkach mrożonych w materiale nieutrwalonym i utrwalonym w zimnym płynie Bakera o temp. $+4^{\circ}\text{C}$ w czasie od 10 do 24 godz. Wykazano obecność następujących enzymów: adenzynotrójfosfatazy, 5-nukleotyduazy, pirofosfatazy tiaminowej, fosfatazy zasadowej, fosfatazy kwaśnej, glikozo-6-fosfatazy, esterazy niespecyficznej, lipazy i leucyno-amino-peptydazy.

1. Adenzynotrójfosfataza wg met. Wachsteina i Meisela, 0,2 M bufor Tris o pH 7,2, czas inkubacji 1,5 godz. w temp. 37°C . Miejsca aktywności adenzynotrójfosfatazy wybarwiały się na kolor brunatno-czarny.

2. 5-nukleotyduaza wg met. Wachsteina i Meisela, 0,2 M bufor Tris o pH 7,2 inkubacja w temp. 37°C przez 2 godz. W miejscu aktywności enzymu wytrącał się brunatno-czarny strąk siarczku ołowiu.

3. Pirofosfataza tiaminowa wg met. Novikoffa i Goldfishera. Bufor Tris — maleinowy 0,2 M o pH 7,2. Czas inkubacji 2 godz., w temp. 37°C . Brunatno-czarny kolor wskazywał na obecność enzymu.

4. Fosfatazę zasadową wg metody sprzęgania z barwnikami dwuazowymi (Pearse). Posługiwano się buforem weronalowo-octanowym o pH 9,2, solą sodową fosforanu alfa naftyłu, Fast Blue BB (prod. Sigma i Gurr's). Inkubowano 3 godz. w temp. 37°C . W wyniku reakcji miejsca aktywności fosfatazy zasadowej wybarwiały się na kolor czarny. Przy wykonywaniu odczynu histochemicznego na fosfatazy zasadową i kwaśną zastosowano modyfikację Z. Lojdy, polegającą na zmianie stosunku substrat-barwnik na korzyść barwnika (1:2) celem zwiększenia dokładności w lokalizacji enzymu.

5. Fosfatazę kwaśną wykrywano również wg metody sprzęgania z barwnikami dwuazowymi. Używano 0,1 M buforu weronalowo-octanowego wg Michaelisa o pH 5,0, soli sodowej fosforanu alfa naftyłu, Fast Blue BB lub Fast Red TR (prod. Gurr's). Inkubowano 1,5 godz. w temp. 37°C . W wyniku reakcji miejsca działania fosfatazy zabarwiały się na ciemno-brunatny lub czerwony kolor w zależności od zastosowanego barwnika. Czytelniejsze obrazy otrzymano używając Fast Blue BB.

6. Glikozo-6-fosfataza wg met. Wachsteina i Meisela. Stosowano 0,2 M bufor Tris o pH 6,7, czas inkubacji 2,5 godz. w temp. 37°C . Aktywność glikozo-6-fosfatazy manifestowała się obecnością brązowo-czarnego strątu siarczku ołowiu.

7. Esterazy niespecyficzne wg met. Pearse'a, stosując barwniki dwuazowe. Wykorzystano także modyfikację Z. Lojdy odnośnie proporcji octanu alfa naftyłu i barwnika. Użyto 0,1 M buforu fosforanowego o pH 6,8 oraz Fast Blue BB. Miejsca występowania enzymu barwiły się na kolor czarno-brązowy. Ponadto wykonując odczyn na esterazy niespecyficzne część skrawków poddawano działaniu ezeryny w celu inaktywowania cholinesterazy.

8. Lipazy wg met. Gomoriego przy użyciu buforu Tris 0,5 M o pH 7,4 oraz 5% wodnego roztworu tweenu 80, inkubując skrawki 8 godz. w temp. 37°C . Czarno-brunatny osad siarczku ołowiu świadczył o obecności enzymu.

9. Leucyno-aminopeptydaza wg met. Burstona i Folka. Skrawki inkubowano w temp. pokojowej przez 30 minut. Stosowano L-leucyno- β -naftyłamid HCL oraz Fast Garnet GBC (prod. KEK). Miejsca aktywności enzymu barwiły się na kolor czerwony.

BADANIA WŁASNE

Ciężar szyszynki, tak u zwierząt kontrolnych jak i w poszczególnych grupach doświadczalnych, wahał się znacznie od 1,6 do 2,5 mg. Nie zauważono żadnej korelacji między wagą gruczołu a okresem ciąży. Stosunek ciężaru szyszynki do

ciężaru ciała w miarę zaawansowania ciąży zmieniał się na niekorzyść szyszynki, ponieważ waga gruczołu pozostawała stała, a waga samicy ciężarnej wzrastała.

Na preparatach barwionych wg metody Hortegi obserwowano skupienia wielokształtnych pineocytów, wypełnionych obficie ziarenkami, niejednokrotnie maskującymi jądra (ryc. 1). Komórki grupowały się wokół naczyń krwionośnych. W przekrojach naczyń widoczne były ruloniki krwinek czerwonych, a na skrawkach barwionych hematoksyliną Mayera i eozyną różnokształtne komórki w małych lub dużych grupach, rzadko pojedynczo. Wypustki ich opisywane przez Bergmanna (9), Arstila (3) były bardzo trudne do wykazania i można je było dostrzec tylko w nielicznych komórkach. Pomiedzy komórkami szyszynkowymi była obecna eozynochłonna tkanka podścieliskowa. Jądra pineocytów układały się najczęściej w środku komórek, a cytoplazma zawierała liczne ziarenka zasadochłonne intensywnie barwiące się hematoksyliną. Obserwowano również pojedyncze komórki bezziańiste. Skrawki barwione wyłącznie hematoksyliną uwidoczniały zarówno jądra jak i liczne, drobne ziarenka rozrzucone w cytoplazmie, natomiast podścielisko było praktycznie niewidoczne. W skrawkach barwionych tylko eozyną stwierdzono niewielką liczbę komórek z ziarenkami kwasochłonnymi, które układały się najczęściej na obwodzie gruczołu. W komórkach preparatów kontrolnych i doświadczalnych nie zauważono podziałów mitotycznych. Barwienie błękitem toluidyny przy pH 5,4, 6,8, 7,8 miało na celu wykazanie komórek tucznych w związku z badaniami Bayerovej i Bayera (6) oraz Farina i Rindi (14). Jednak mimo wnikliwej analizy skrawków w żadnej z badanych grup komórek tucznych nie znaleziono. Zastosowanie błękitu alcjanowego zwróciło uwagę na występowanie kwaśnych mukopolisacharydów w tkance podścieliskowej szyszynki. Preparaty barwione wg metody Ciaccio i czerwienią tłuszczową wskazywały obecność różnej wielkości ziarenek lipidów. Można było rozróżnić komórki przeładowane ziarnistościami, z małą ilością lipidów, a nawet zupełnie ich pozbawione. W okolicach naczyń krwionośnych dostrzegano ziarenka lipidów leżące także między komórkami.

OBSERWACJE HISTOCHEMICZNE

Adenozynotrójfosfataza

Grupa kontrolna

Wyraźnie pozytywna reakcja zaznaczyła się w cytoplazmie, jądrach i naczyniach krwionośnych (ryc. 2). Intensywny odczyn w błonach komórkowych wyrażony był za pomocą gęsto obok siebie ułożonych elementów ziarnistych. Ziarenka wypełniające cytoplazmę przeważnie

maskowały jądra. Odślonięte jądra wykazywały reakcję gruboziarnistą. W większości komórek szyszynkowych nasilenie aktywności enzymatycznej było prawie równomierne. Obserwowano jednak pojedyncze komórki z bardzo silną reakcją. Położenie ich przeważnie nie było związane z bliskością naczyń krwionośnych. W podścielisku reakcja na adenozy-notrójfosfatę miała charakter dyfuzyjny i była słabo nasiloną.

Grupa doświadczalna I (7 dzień ciąży)

W komórkach zauważono niewielki wzrost aktywności enzymatycznej. Odczyn na adenozy-notrójfosfatę stał się gruboziarnisty zarówno w błonach komórkowych, jądrach i cytoplazmie, a w naczyniach krwionośnych i podścielisku reakcja była podobna do kontrolnej. Obserwowano pojedyncze komórki z wybitnym enzymo-dodatnim odczynem (ryc. 3)

Grupa doświadczalna II (10 dzień ciąży)

Intensywność i rozmieszczenie odczynów na adenozy-notrójfosfatę zarówno w komórkach, naczyniach krwionośnych i podścielisku była podobna jak w grupie I.

Grupa doświadczalna III (13 dzień ciąży)

W tej grupie obserwowano charakterystyczny układ komórek z wybitnie nasiloną aktywnością enzymatyczną w pobliżu naczyń krwionośnych (ryc. 4). Ziarenka adenozy-notrójfosfaty były liczne i grube, mające tendencję do łączenia się. Jądra w tych komórkach wykazywały prawie jednolitą, bardzo intensywną reakcję. Obrazy pozostałych komórek i naczyń krwionośnych miały aktywność enzymatyczną podobną jak w grupach I i II. W podścielisku odczyn ziarnisty i dyfuzyjny był słabszy niż w wyżej wymienionych grupach.

Grupa doświadczalna IV (16 dzień ciąży)

Nie obserwowaliśmy zasadniczych różnic w aktywności i lokalizacji enzymu w porównaniu z grupą III.

Grupa doświadczalna V (19 dzień ciąży)

W coraz większej liczbie komórek położonych w sąsiedztwie naczyń krwionośnych pojawiła się intensywna aktywność adenozy-notrójfosfaty. Komórki z pozytywnym odczynem „oblepiały” naczynia krwionośne (ryc 5). Ciekawe zjawisko obserwowano w okolicach szyszynki, które leżały w niewielkiej odległości od naczyń krwionośnych. Występowały w nich tylko pojedyncze komórki ze znaczną aktywnością adenozy-notrójfosfaty. W tej grupie doświadczalnej można dopatrywać się rejonizacji aktywności enzymu w obrębie szyszynki. Tereny okołonaczyniowe wykazywały wybitną reakcję na adenozy-notrójfosfatę, a nieco

oddalone były mniej czynne. To zjawisko już zaznaczało się w III i IV grupie. Odczyn w podścielisku wskazywał na miernie nasiloną reakcję.

Grupa doświadczalna VI (22 dzień ciąży)

Komórki z bardzo silnie wyrażoną aktywnością na adenozynotrójfosfatazę zajmowały większą przestrzeń wokół naczyń krwionośnych niż w grupie V. Cytoplazma była przepełniona ziarnistościami, a błony komórkowe sprawiały wrażenie ciągłych linii. Jądra miały prawie jednolite zabarwienie. W tkance podścieliskowej pojawił się wyraźny odczyn ziarnisty. Ściany naczyń krwionośnych, podobnie jak we wszystkich opisanych grupach, wykazywały intensywną reakcję.

5 - nukleoty d a z a

Grupa kontrolna

Aktywność 5-nukleotydu obserwowano w jądrach komórkowych, naczyniach krwionośnych, elementach morfotycznych krwi i tkance podścieliskowej (ryc. 6). Błony komórkowe i cytoplazma komórek szyszynki nie wykazywały obecności enzymu. Błona jądrowa miała niejednakową zawartość 5-nukleotydu, dostrzegało się odcinki mniej i więcej aktywne. W szeregu jądrach wewnątrz karioplazmy występował odczyn ziarnisty lub jednolicie barwny. Reakcja enzymatyczna w ścianach naczyń krwionośnych była wyraźna, a w podścielisku lekko zaznaczona.

Grupa doświadczalna I (7 dzień ciąży)

Odczyn histochemiczny na 5-nukleotydu nie różnił się od uzyskanego w grupie kontrolnej.

Grupa doświadczalna II (10 dzień ciąży)

Aktywność enzymatyczna 5-nukleotydu nie zmieniła się w sposób uchwytny w porównaniu z grupami: kontrolną i I doświadczalną.

Grupa doświadczalna III (13 dzień ciąży)

Jądra komórkowe w tej grupie doświadczalnej wykazywały zwiększoną aktywność enzymatyczną. Ziarenka stały się grube, silnie wysyczone, niekiedy zlewały się ze sobą. Nie wszystkie naczynia krwionośne miały jednakowo nasiloną reakcję barwną. Komórki z jądrami bogatymi w 5-nukleotydu nadal nie układały się w pobliżu naczyń krwionośnych.

Grupa doświadczalna IV (16 dzień ciąży)

Aktywność 5-nukleotydu utrzymywała się na poziomie obserwowanym w grupie uprzednio opisanej.

Grupa doświadczalna V (19 dzień ciąży)

Zauważono niewielkie zwiększenie się aktywności 5-nukleotyduzy w porównaniu z grupami III i IV. Jądra komórkowe wypełnione były ziarenkami, które wskazywały na obecność enzymu. W podścielisku obserwowano miernie nasiloną drobnoziarnistą reakcję.

Grupa doświadczalna VI (22 dzień ciąży)

W tym okresie ciąży zwiększyła się wyraźnie liczba komórek z wysoką aktywnością enzymatyczną w obrębie jąder (ryc. 7). Obserwowano naczynia krwionośne z dodatnią reakcją na 5-nukleotyduzę, z bardzo słabą, a nawet ujemną. Odczyn w obrębie podścieliska zachowywał się podobnie jak w grupach poprzednio opisywanych.

Pirofosfataza tiaminowa

Grupa kontrolna

Pirofosfataza tiaminowa manifestowała się w formie struktur ziarnistych, blaszkowatych, nitkowatych lub tworzących pierścienie względnie półpierścienie (ryc. 8). Enzym ten umiejscowił się w przestrzeniach odpowiadających polom Golgiego. Tam, gdzie pirofosfataza tiaminowa występowała w postaci pierścieni, można było wyraźnie zobaczyć jądra pozbawione zupełnie reakcji. Również nie znajdowano dodatniego odczynu enzymatycznego w błonach komórkowych. Pirofosfataza tiaminowa układała się w obrębie szyszynki niezależnie od obecności naczyń krwionośnych, które wykazywały wybitnie pozytywną reakcję.

Grupa doświadczalna I (7 dzień ciąży)

W porównaniu z grupą kontrolną zwiększyła się liczba komórek z wyraźnym odczynem pirofosfatazo-dodatnim (ryc. 9). Naczynia krwionośne wykazywały reakcję pozytywną. Odczyn enzymatyczny w badanej grupie przyjmował najczęściej postać pierścieni oraz tworów nitkowatych złożonych z drobnych fragmentów.

Grupa doświadczalna II (10 dzień ciąży)

Zwiększyła się aktywność na pirofosfatazę tiaminową i uległa zmianie forma jej występowania (ryc. 10). Oprócz mniej licznych tworów pierścieniowatych obserwowano znaczną ilość zbitych struktur, maskujących jądra. Położenie komórek szyszynkowych z wysoką aktywnością pirofosfatazy tiaminowej nie łączyło się z sąsiedztwem naczyń krwionośnych.

Grupa doświadczalna III (13 dzień ciąży)

W coraz większej liczbie komórek szyszynkowych pojawiał się intensywny odczyn na pirofosfatazę tiaminową. Występował, podobnie jak w grupie poprzednio opisanej, w formie pierścieni otaczających jądra.

Widoczne były skupiska komórek ze wzmożoną aktywnością pirofosfatazy tiaminowej w pobliżu naczyń krwionośnych.

Grupa doświadczalna IV (16 dzień ciąży)

Obraz aktywności enzymatycznej był zbliżony do uzyskanego u zwierząt w III grupie. Odczyny histochemiczne były nasilone, więcej spotykało się struktur jednolicie, intensywnie wybarwionych, a mniej pierścieniowatych. Obserwowano również skłonność do układania się komórek aktywnych enzymatycznie w bliskości naczyń krwionośnych.

Grupa doświadczalna V (19 dzień ciąży)

Ten okres charakteryzował się występowaniem w szyszynce ognisk wysokiej aktywności enzymatycznej, które jednak nie zawsze były związane z sąsiedztwem naczyń krwionośnych. W obrębie tych miejsc znajdowano struktury zbite, maskujące jądra. Pomiedzy obszarami wzmożonej reakcji na pirofosfatazę tiaminową widoczne były pojedyncze twory pierścieniowate, wskazujące na obecność enzymu.

Grupa doświadczalna VI (22 dzień ciąży)

Podobnie jak w grupie poprzedniej występowały skupiska komórek aktywnych enzymatycznie zarówno w okolicach oddalonych od naczyń krwionośnych jak i tuż przy naczyniach (ryc. 11). Odczyn na pirofosfatazę tiaminową manifestował się najczęściej pod postacią struktur zbitych i pierścieniowatych.

Fosfataza zasadowa

Grupa kontrolna

W środkowej części szyszynki występował zawsze odczyn słabszy niż w obwodowej. Nie dotyczyło to jednak naczyń krwionośnych, które niezależnie od strefy szyszynki wykazywały intensywną reakcję. Wokół naczyń krwionośnych stwierdzało się pozytywny odczyn na fosfatazę zasadową o charakterze ziarnistym (ryc. 12). Ziarenka miały różną wielkość i nasilenie zabarwienia. Nie obserwowano enzymu w błonach komórkowych, natomiast jądra pineocytów w pobliżu naczyń krwionośnych, a także jądra komórek podścieliska, wskazywały na obecność fosfatazy zasadowej. Na obszarach oddalonych od naczyń krwionośnych spotykano niewielkie grupy ziarenek aktywnych enzymatycznie, ale występowały także miejsca pozbawione ich zupełnie.

Grupa doświadczalna I (7 dzień ciąży)

Aktywność i rozmieszczenie fosfatazy zasadowej w tej grupie zwierząt nie różniły się zasadniczo od obrazów otrzymanych u samic kontrolnych.

Grupa doświadczalna II (10 dzień ciąży)

Wysoka aktywność na fosfatazę zasadową nadal występowała w naczyniach krwionośnych. Dało się zauważyć zacieranie różnic między nasileniem reakcji enzymatycznej w obwodowej i środkowej części szyzyny. W strefie środkowej pojawiło się więcej ziarenek dających dodatni odczyn na fosfatazę zasadową, natomiast obraz okolicy obwodowej nie uległ zmianie w porównaniu z poprzednio opisywanymi grupami.

Grupa doświadczalna III (13 dzień ciąży)

Różnica między aktywnością fosfatazy zasadowej w części środkowej i obwodowej szyzyny zatarła się zupełnie. Można było wyróżnić na skrawkach miejsca z większą reakcją enzymatyczną lub pozbawione jej zupełnie, nie pozostawały one jednak w żadnej korelacji ze strefą narządu. Naczynia krwionośne, jak we wszystkich opisywanych dotąd grupach, wykazywały wybitny odczyn na fosfatazę zasadową. W komórkach obserwowano jądra z równomiernie rozłożoną reakcją barwną lub tylko z odczynem w błonie jądrowej. Błona jądrowa rysowała się albo w postaci jednolitej struktury, albo miejscami występowały skupienia o większej aktywności enzymatycznej. Rozpatrując aktywność fosfatazy zasadowej jąder komórkowych w odniesieniu do naczyń krwionośnych — nie można podać ogólnego schematu. Przy niektórych naczyniach obserwowano w większej liczbie komórki z jądrami o równomiernym zabarwieniu, przy innych spotykało się obrazy mieszane lub z przewagą odczynu w błonie jądrowej.

Grupa doświadczalna IV (16 dzień ciąży)

Odczyny na fosfatazę zasadową przypominały obrazy uzyskane w grupie III. Nieco więcej można było dostrzec jąder komórkowych z jednolitym zabarwieniem niż z zaznaczonym tylko w błonie jądrowej (ryc. 13)

Grupa doświadczalna V (19 dzień ciąży)

Ten okres ciąży nie wywołał uchwytłych zmian w zachowaniu się reakcji histochemicznej na fosfatazę zasadową w porównaniu z III i IV grupą doświadczalną.

Grupa doświadczalna VI (22 dzień ciąży)

Obserwowano wyraźnie więcej ziarnistości, świadczących o obecności fosfatazy zasadowej, zarówno wokół naczyń krwionośnych jak i w przestrzeniach międzynaczyniowych (ryc. 14). W tej grupie doświadczalnej było mniej miejsc zupełnie pozbawionych reakcji enzymatycznej. W pobliżu naczyń — niezależnie od tego czy położonych w części środkowej, czy obwodowej gruczołu — spotykało się zwiększoną aktywność enzy-

matyczną w postaci równomiernie zabarwionych jąder lub błon jądro-
wych. Poza naczyniami były również obszary ze wzmożoną ilością fosfa-
tazy zasadowej. Występowały też naczynia krwionośne, przy których
odczyn na fosfatazę zasadową był słaby lub miernie nasilony.

Fosfataza kwaśna

Grupa kontrolna

Fosfataza kwaśna występowała w szyszynce pod postacią odczynu
ziarnistego, który wskazywał na obecność lizosomów. Spotykano nie-
liczne komórki z odczynem dyfuzyjnym (ryc. 15). Naczynia krwionośne
wykazywały jedynie bardzo nikłą reakcję w śródbłonkach. W przeci-
wieństwie do fosfatazy zasadowej nie zauważono różnic w nasileniu
odczynu enzymatycznego w strefie obwodowej i środkowej szyszynki.
Aktywność na fosfatazę kwaśną układała się w małe lub duże skupienia
w obrębie narządu, które nie zawsze były położone w sąsiedztwie na-
czyń krwionośnych. Odczyn w podścielisku był słabo zaznaczony.

Grupa doświadczalna I (7 dzień ciąży)

Umiejscowienie i natężenie aktywności enzymatycznej przypominało
obraz uzyskany w grupie kontrolnej.

Grupa doświadczalna II (10 dzień ciąży)

Nieco zmniejszył się odczyn na fosfatazę kwaśną. Występowało
mniej skupień komórek aktywnych enzymatycznie. Niektóre naczynia
krwionośne wykazywały słabą reakcję barwną w śródbłonkach.

Grupa doświadczalna III (13 dzień ciąży)

Odczyn na fosfatazę kwaśną w 13 dniu ciąży był podobny do obser-
wowanego w 10 dniu.

Grupa doświadczalna IV (16 dzień ciąży)

Aktywność na fosfatazę kwaśną uległa osłabieniu. Odczyn stał się
drobnoziarnisty, a w cytoplazmie nielicznych komórek był odczyn dyfu-
zyjny. Śródbłonki naczyń krwionośnych wykazywały jak poprzednio
słabą reakcję enzymatyczną.

Grupa doświadczalna V (19 dzień ciąży)

Odczyn na fosfatazę kwaśną ogólnie przypominał obraz z 16 dnia
ciąży.

Grupa doświadczalna VI (22 dzień ciąży)

Zasadniczo nie uchwycono istotnych różnic w reakcji histochemicz-
nej na fosfatazę kwaśną między grupą obecnie opisywaną a poprzednią.

Umieszczenie i stopień aktywności enzymatycznej były bardzo podobne. Spotykano również komórki z odczynem dyfuzyjnym, których liczba nie uległa zmianie. Zaznaczała się także słaba reakcja barwna w śródbłonkach naczyń krwionośnych (ryc. 16).

Glikozo-6-fosfataza

Grupa kontrolna

Odczyn histochemiczny na glikozo-6-fosfatazę, który jest markerem retikulum endoplazmatycznego, występował w szyszynce w postaci drobniutkich ziarenek, mających skłonność do łączenia się. Nasilenie reakcji było jednakowe na całym obszarze narządu. Nieliczne naczynia krwionośne wykazywały w ścianach zaznaczony odczyn barwny. Obecność enzymu w komórkach dostrzegano się w strefie dokołajądrowej cytoplazmy (ryc. 17).

Grupa doświadczalna I (7 dzień ciąży)

Intensywność i rozmieszczenie aktywności glikozo-6-fosfatazy w skrawkach badanej szyszynki podobne było do obrazów z grupy kontrolnej.

Grupa doświadczalna II (10 dzień ciąży)

Zauważono wzrost odczynów na glikozo-6-fosfatazę w niektórych rejonach szyszynki. Miejsca wzmożonej aktywności enzymatycznej występowały zarówno w obwodowej, jak i w środkowej części szyszynki. Podobnie jak w grupie kontrolnej i doświadczalnej I, nieliczne naczynia krwionośne wykazywały reakcję na glikozo-6-fosfatazę.

Grupa doświadczalna III (13 dzień ciąży)

Nie stwierdzono różnic w odczynie histochemicznym na glikozo-6-fosfatazę w porównaniu z II grupą.

Grupa doświadczalna IV (16 dzień ciąży)

Zaobserwowano wzrost aktywności enzymatycznej na całym obszarze szyszynki. Można było wykazać różnej wielkości ziarenka, niekiedy zlewające się, tworzyły wtedy większe konglomeraty, maskujące jądra komórkowe. Odczyn w naczyniach krwionośnych zachowywał się jak poprzednio.

Grupa doświadczalna V (19 dzień ciąży)

Wyraźniej niż w II grupie zarysowywały się małe i duże skupiska wzmożonej reakcji na glikozo-6-fosfatazę (ryc. 18).

Grupa doświadczalna VI (22 dzień ciąży)

Występowały różnej wielkości ogniska komórek z wysoką aktywnością enzymatyczną wyraźnie odgraniczone od otoczenia, położone zarówno w części obwodowej jak i środkowej szyszynki (ryc. 19). Ziarenka występujące w strefie cytoplazmy okołojądrowej łączyły się ze sobą. Tylko nieliczne naczynia krwionośne wykazywały reakcję na glikozo-6-fosfatazę.

Esteraza niespecyficzna

Grupa kontrolna

Odczyn na esterazę niespecyficzną, rozszczepiającą octan alfa nafyly, był prawie równomiernie rozłożony na całym obszarze szyszynki pod postacią małych lub dużych ziarenek, zarówno w pineocytach jak i w podścielisku. W śródbłonkach naczyń krwionośnych obserwowano słabą reakcję barwną (ryc. 20). Przeprowadzona inaktywacja cholinesterazy ezeryną i wykonany następnie odczyn na esterazę niespecyficzną nie uległ zmianie w porównaniu z poprzednio opisanym.

Grupy doświadczalne I, II, III, IV, V (7, 10, 13, 16, 19 dzień ciąży)

Grupy te omówiono wspólnie, ponieważ uzyskane obrazy odczynów histochemicznych zasadniczo nie różniły się od siebie. Drobne i grube ziarnistości występujące w obrębie szyszynki tworzyły miejscami duże skupienia, ale widoczne były także bardzo małe obszary pozbawione zupełnie ziarenek (ryc. 21). Śródbłonki naczyń krwionośnych, podobnie jak w grupie kontrolnej, wykazywały słabą reakcję enzymatyczną. Prawdopodobnie esterazy niespecyficzne występowały zarówno w jądrach, jak i w cytoplazmie komórek, chociaż lokalizacja wewnątrzkomórkowa jest tu bardzo trudna. Inaktywowanie cholinesterazy w tych grupach doświadczalnych dało również wynik ujemny.

Grupa doświadczalna VI (22 dzień ciąży)

Zmienił się nieco charakter odczynu enzymatycznego. Obok drobnych ziarenek spotykano znacznie większą liczbę ziaren grubych intensywnie wysyconych. Śródbłonki naczyń krwionośnych i reakcja na cholinesterazę zachowywały się podobnie, jak w wyżej opisanych grupach.

Lipazy

Grupa kontrolna

Reakcja barwna na lipazy układała się szczególnie chętnie w okolicach naczyń krwionośnych, można ją również było obserwować w prze-

strzeniach międzynacyniowych (ryc. 22). Rysunek aktywności enzymatycznej na przekroju szyszynki był podobny. Lipazy lokalizowały się w komórkach wokół jąder w postaci pierścieni lub półpierścieni złożonych z drobnych ziarenek. Błony komórkowe nie barwiły się.

Grupa doświadczalna I, II, III (7, 10, 13 dzień ciąży)

Odczyny histochemiczne na lipazy w tych badanych grupach nie różniły się od siebie i od opisywanych w grupie kontrolnej, zarówno pod względem aktywności jak i rozmieszczenia enzymu.

Grupa doświadczalna IV (16 dzień ciąży)

Reakcja enzymatyczna była bardzo podobna do poprzednich z tym, że intensywniejszy odczyn na lipazy wykazywały naczynia krwionośne.

Grupa doświadczalna V (19 dzień ciąży)

Obserwowano dużą ilość komórek z dodatnią reakcją na lipazy, które układały się w strefie dokołajądrowej. Rozmieszczenie aktywności enzymatycznej było równomierne na przekroju całego narządu.

Grupa doświadczalna VI (22 dzień ciąży)

Charakter odczynu histochemicznego na lipazy uległ wyraźnej zmianie. Obserwowano małe lub duże grupy komórek z wybitną aktywnością enzymatyczną w strefie okołajądrowej (ryc. 23). Występowały okolice w szyszynce, w których komórki nie wykazywały reakcji lipazo-pozytywnych. W naczyniach krwionośnych był, jak poprzednio, intensywny odczyn barwny.

Leucyno-aminopeptydaza

Grupa kontrolna

Leucyno-aminopeptydaza występowała w postaci drobnych ziarenek, tworzących łańcuszki w okolicach przyjądrowych, odpowiadających strefom Golgiego. Nie zauważono dodatniego odczynu w jądrach i błonach komórkowych. W obrębie gruczołu nasilenie reakcji enzymatycznej było prawie jednakowe, tylko w nielicznych miejscach dostrzegano się zmniejszoną aktywność enzymu, co nie miało związku ze środkową czy obwodową jego częścią. Na ogół nie wykazywano odczynu na leucyno-aminopeptydazę w ścianach naczyń krwionośnych, tylko w bardzo nielicznych bywał słabo zaznaczony. Obfitość reakcji wskazywała, że występowała ona także w tkance podścieliskowej.

Grupa doświadczalna I (7 dzień ciąży)

Aktywność i rozmieszczenie reakcji na leucyno-aminopeptydazę w komórkach szyszynki przypominały obraz opisany w grupie kontrolnej.

Grupa doświadczalna II (10 dzień ciąży)

Odczyn enzymatyczny nieco wzrósł w porównaniu z grupą kontrolną i I doświadczalną. Można również wykazać przestrzenie o nieco mniej nasilonym odczynie na leucyno-aminopeptydazę. Strefa wzmożonej aktywności enzymatycznej w okolicach okołojądrowych była intensywnie wybarwiona. W ścianach naczyń krwionośnych bardzo rzadko pojawiała się niska reakcja barwna.

Grupa doświadczalna III i IV (13 i 16 dzień ciąży)

Obraz reakcji histochemicznej na leucyno-aminopeptydazę utrzymywał się na poziomie obserwowanym w II grupie.

Grupa doświadczalna V (19 dzień ciąży)

Dokładna analiza skrawków wykazała w porównaniu z poprzednio opisywanymi grupami małą liczbę miejsc ze słabą aktywnością enzymatyczną. Wokół jąder występowała żywa reakcja na leucyno-aminopeptydazę wyrażona w postaci pierścieni, ziarenek łączących się ze sobą i łańcuszków.

Grupa doświadczalna VI (22 dzień ciąży)

W tej grupie doświadczalnej na przekroju całej szyszynki była bardzo wysoka aktywność leucyno-aminopeptydazy (ryc. 24).

OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ

Ciąża stanowi fizjologiczne zachwianie równowagi hormonalnej i wywołuje zmiany w przemianie materii komórek szyszynki. Hormony łącznie z układem nerwowym sprawują kontrolę nad metabolizmem kcmórkowym, którego liczne tory wymagają skoordynowanej działalności układów wieloenzymatycznych. Istnieje ścisła łączność między morfologicznymi i biochemicznymi właściwościami komórek, a w odniesieniu do szyszynki napotyka się na szereg nieudowodnionych i sprzeczności (Karasek — 29).

Charakterystyczne cechy pineocytów posłużyły badaczom za kryteria ich podziału. Bratiano (9), analizując szczegóły budowy komórek szyszynkowych wysunął na czoło podział Hortegi, który brał pod uwagę wielkość i liczbę wypustek. Wisłocki i Dempsey (58) dzielili komórki szyszynki mały na 2 typy pod względem zawartości glikogenu podobnie jak to robili Mikami i Tohoku (36). Quay (49, 50) rozróżniał pineocyty zawierające różną liczbę kropelek lipidów w cytoplazmie. Hungerford i Pomerat (26) hodując *in vitro* komórki szyszynki szczura wyodrębnili trzy zasadnicze typy: bezziaśni-

ste, z ziarnistościami lipidów i z ziarnistościami zasadochłonnymi. Nie znajdowali komórek z ziarnistościami kwasochłonnymi.

W badanych przez nas szyszynkach obserwowano przeważającą liczbę komórek z ziarenkami lipidów, z ziarenkami zasadochłonnymi oraz nieliczne komórki bez ziarnistości lub z ziarenkami kwasochłonnymi. Niejasne jest występowanie komórek tucznych, które Bayerowa i Bayer (6) oraz Farina i Rindi (14) opisywali w szyszynce ludzkiej. Machado (35) w szyszynce szczurów znajdował komórki tuczne, ale bardzo rzadko. W badanych przez nas szyszynkach nie wykazano obecności tych komórek. W naszym materiale, zarówno kontrolnym jak i doświadczalnym, nie obserwowano mitoz w pineocytach. Jest to zgodne z doniesieniami podanymi przez Arstila (3). Natomiast Bergmann (4) jest zdania, że komórki szyszynki u dorosłych mogą się dzielić, ale tylko amitotycznie, chociaż w szyszynce człowieka zauważono jedno ze stadiów mitozy.

Badania Pawlikowskiego i wsp. (44) w mikroskopie elektronowym pozwoliły wyodrębnić w komórkach szyszynki twory nazwane ciałkami wieloblaszkowymi o niewyjaśnionym znaczeniu, a Heinecke (24) oraz Gusek i Santaro (22) opisali wgłobienia cytoplazmy do jąder tzw. kule jądrowe, które dokładnej analizie poddał Karasek (28). Wpuklenia te, otoczone błoną jądrową zwiększają znacznie powierzchnię wymiany między jądrem a cytoplazmą, co jest oznaką dużej aktywności wydzielniczej komórki. Kule jądrowe znaleziono w komórkach cechujących się żywym metabolizmem, a wśród nich i w komórkach szyszynki.

Nasze obserwacje histochemiczne pozwoliły w szyszynce szczurzej wykryć następujące enzymy: adenozynotrójfosfatazę, pirofosfatazę tiaminową, fosfatazę zasadową, fosfatazę kwaśną, glikozo-6-fosfatazę, esterazy niespecyficzne, lipazy, leucyno-aminopeptydazę.

I. Wysoką aktywność adenozynotrójfosfatazy wykazano w komórkach i w naczyniach krwionośnych. Dodatnia reakcja występowała w błonach komórkowych, w cytoplazmie i jądrach. U zwierząt najwyższą aktywnością enzymatyczną cechują się komórki wydzielnicze i nerwowe (Zakrzewska-Henisz — 61). W odniesieniu do obecności adenozynotrójfosfatazy w jądrach komórkowych zdania są podzielone. Wg Eschera i wsp. (13) oraz Freimana i Kaplana (17) adenozynotrójfosfataza w jądrach nie występuje, natomiast inni badacze np. Padykula i Herman (43) twierdzili, że enzym ten jest aktywny i ściśle związany z syntezą polinukleotydów jądrowych. Szczególną aktywnością adenozynotrójfosfatazy wyróżniają się komórki z szybkim metabolizmem RNA.

Odczyn na adenozynotrójfosfatazę zwiększył się już w pierwszym tygodniu ciąży. W pineocytach enzymatycznie dodatnia była zarówno błona jądrowa, jak i pozostała część karioplazmy. Obfitość ziarenek w cytoplazmie, dających dodatnią reakcję enzymatyczną wiązała się prawdopodobnie ze znaczną liczbą mitochondriów (Schulze — 53). Już w 1933 r. Calvet (10) wybarwił w komórkach szyszynki wołu i barana duże liczby mitochondriów, a znacznie później Robertis i wsp. (52) wykazali także w pineocytach liczne, podłużne ciała mitochondrialne.

W drugiej połowie ciąży, a szczególnie w 19 i 22 dniu wybitnie wzrosła aktywność adenozynotrójfosfatazy w komórkach szyszynkowych leżących w bliskim sąsiedztwie naczyń krwionośnych. Wzrost tego odczynu uwarunkowany był niewątpliwie zwiększeniem się liczby hormonów produkowanych nie tylko przez jajnik i świadczył o wzmożonej syntezie białek i kwasów nukleinowych. Obecność adenozynotrójfosfatazy w błonie komórkowej i jądrowej przemawia za jej udziałem w aktywnym transporcie. Proces ten nie jest tylko zwykłą dyfuzją — warunkuje go cały szereg reakcji chemicznych (Żydowo — 67). Nasilająca się więc pod koniec ciąży aktywność adenozynotrójfosfatazy w komórkach wskazuje na intensywnie odbywającą się wymianę między jądrem a cytoplazmą oraz między komórkami i krwią.

II. Odczyn histochemiczny na 5-nukleotydamę występował w jądrach komórek szyszynki szczuryc kontrolnych i ciężarnych, w naczyniach krwionośnych i elementach morfotycznych krwi. Reis (51), Hardonk i Boer (23) opisywali znaczne indywidualne różnice w zawartości 5-nukleotydamy w tkankach różnych zwierząt np. w narządach szczura i myszy jest jej bardzo dużo, natomiast tkanki gołębia wykazują słabą aktywność enzymatyczną. Znaczenie 5-nukleotydamy nie jest dokładnie sprecyzowane. Vorbrodt (57) uważał, że 5-nukleotydamy bierze czynny udział w syntezie nukleotydów, a cytowany już Hardonk i Boer (23) wskazywali, że może ona uczestniczyć w katabolizmie kwasów nukleinowych. W ostatnim dniu ciąży obserwowano wzrost liczby pineocytów z intensywną aktywnością 5-nukleotydamy w jądrach. Może to świadczyć o zaangażowaniu się większej liczby komórek w przemianę, w których bierze udział ten enzym.

III. Odczyn na pirofosfatazę tiaminową lokalizował się w komórkach szyszynkowych w polu Golgiego w postaci ziarenek, blaszek, niteczek, pierścieni lub półpierścieni. Naczynia krwionośne miały wybitną aktywność enzymatyczną. Nie obserwowano w komórkach odczynu dyfuzyjnego, który prawdopodobnie był związany z występowaniem w mikrosomach dwufosfatazy nukleozydowej. Wg Novikoffa, Goldfishera (42) i Allena (2) aktywność pirofosfatazy tiaminowej jest wprost

proporcjonalna do stanu funkcjonalnego aparatu Golgiego, a rozmieszczenie reakcji enzymatycznej odpowiada połom Golgiego. Grzycki (19, 20), badając struktury Golgiego stwierdził, że biorą one czynny udział w metabolizmie komórek. Wzmoczoną aktywność pirofosfatazy tiaminowej zauważono już w 7 dniu ciąży, a w 13 dniu można było wyodrębnić w szyszynce pola z bardzo nasilonym odczynem enzymatycznym, które nie zawsze towarzyszyły naczyniom krwionośnym. Taki obraz utrzymywał się do końca ciąży. Silniejsze odczyny histochemiczne w niektórych rejonach szyszynki wydają się przemawiać za pobudzeniem metabolizmu tylko niektórych komórek w ostatnim okresie ciąży lub za wyczerpaniem funkcjonalnym pozostałych elementów komórkowych. Na występowanie cykli wydzielniczych w pineocytach szczura zwrócił uwagę Quay (46), rozpatrując je tylko pod kątem morfologicznym. Można przeprowadzić analogię w zachowaniu się odczynu na adenozyotrójfosfatazę i pirofosfatazę tiaminową. Zarówno w jednym, jak i w drugim wypadku występowały ogniska ze wzmoczoną aktywnością enzymatyczną w obrębie szyszynki, co z kolei świadczy o intensywnych przemianach w komórkach.

IV. Występowanie fosfatazy zasadowej w szyszynce jest niejednakowo interpretowane przez różnych badaczy. Wisłocki i Dempsey (58) opracowali zachowanie się kilku reakcji histochemicznych, a między innymi i na fosfatazę zasadową w szyszynce małpy ostrobrewki. Stwierdzili oni intensywny odczyn w pineocytach obejmujący jądra i cytoplazmę, w naczyniach krwionośnych i w tkance okołonaczyniowej. W komórkach podścieliska fosfatazy zasadowej nie znaleźli. Autorzy ci powołują się na badania wykonane na szyszynkach kozy, świni, konia i owcy, które potwierdzają ich spostrzeżenia. Kitay (30) oraz Leduc i Wisłocki (31) wykryli fosfatazę zasadową w szyszynce szczura jedynie w naczyniach krwionośnych i w tkance otaczającej je (u królika tylko w naczyniach krwionośnych). Natomiast Kappers i wsp. (27) opisali fosfatazę zasadową w komórkach szyszynkowych szczura.

Wobec tak różnorodnych i nielicznych danych ostrożnie oceniono otrzymane wyniki. Rozpatrywano obrazy uzyskane w oparciu o metody sprzęgania z barwnikami dwuazowymi, które przewyższają metodę Gomoriego dzięki swej prostocie i dokładności (Zawistowski — 62). W skrawkach grupy kontrolnej odczyn na fosfatazę zasadową był bardzo intensywny w naczyniach krwionośnych. Również obserwowano obecność enzymu w jądrach pineocytów i komórek tkanki okołonaczyniowej, co jest poddawane w wątpliwość przez wielu badaczy. Feigin i Volf (15, 45) stoją na stanowisku, że występowanie fosfatazy zasadowej

w jądrach komórkowych jest wywołane wtórną adsorpcją produktów reakcji histochemicznej.

W miarę trwania ciąży wzrastała aktywność fosfatazy zasadowej zarówno wokół naczyń krwionośnych, jak i w przestrzeniach międzynaczyniowych. Spotykano jądra komórkowe z równomiernie rozłożoną reakcją barwną lub tylko widoczną w błonie jądrowej. Naczynia krwionośne tak, jak w grupie kontrolnej i we wszystkich okresach ciąży były wybitnie fosfatazo-dodatnie. Nasze obserwacje wskazują na występowanie fosfatazy zasadowej w błonie jądrowej i karioplazmie. Istnieją przypuszczenia jakoby fosfataza zasadowa lokalizowała się w polu Golgiego. *Zawistowski* (64) przeczy tym poglądom, jednak nie wyklucza zależności funkcjonalnej między strukturami Golgiego a fosfatazą zasadową. Zwykle wzrost odczynów na ten enzym łączy się z uaktywnieniem struktur Golgiego (*Lojda, Zawistowski* — 34). W naszych badaniach zwiększeniu się reakcji enzymatycznych na fosfatazę zasadową w niektórych rejonach szyszynki towarzyszył wzmożony odczyn na pirofosfatazę tiaminową.

Wzrost aktywności fosfatazy zasadowej w ostatnim okresie ciąży jest prawdopodobnie związany z obecnością dużej liczby estrogenów, co z kolei bezpośrednio łączyłoby się z przemianą węglowodanów i zapotrzebowaniem na kwas fosforowy. Stały, intensywny odczyn na fosfatazę zasadową w naczyniach krwionośnych szyszynki zarówno u zwierząt nieciążarnych, jak i ciężarnych może świadczyć, że bierze ona czynny udział w przekazywaniu produktów przemiany materii między tkanką a krwią i odwrotnie.

V. Kolejnym enzymem obserwowanym w szyszynce zwierząt kontrolnych i doświadczalnych była fosfataza kwaśna, związana ściśle z lizosomami (*Lojda i wsp.* — 33), występująca w formie ziarenek w okolicy jąder komórkowych. *Bostelmann i wsp.* (8) wykazywali obecność fosfatazy kwaśnej w cytoplazmie komórek szyszynki szczura i królika. W śródbłónkach naczyń krwionośnych stwierdzało się bardzo słabo zaznaczony odczyn barwny. W nielicznych komórkach szyszynkowych spotykano odczyn dyfuzyjny. *Novikoff* (41) i *Wolna* (59) podkreślali, że może on być dowodem zachwiania się równowagi metabolicznej w kierunku uwstecznienia się komórek. Prawdopodobnie rola fosfatazy kwaśnej wiąże się z procesami wewnątrzkomórkowej syntezy białka cytoplazmatycznego. Poza tym katalizując inne reakcje spełnia nie tylko czynność hydrolityczną, lecz również jest przekaźnikiem reszt fosforowych na liczne substraty — czyli byłaby aktywna przy fosforylacji i defosforylacji. W II połowie ciąży uległa osłabieniu reakcja na fosfatazę kwaśną. Znany jest fakt, że estrogeny hamują jej aktywność.

Baraka (5) podawał, że aktywność fosfatazy kwaśnej jest w korelacji z czynnością przysadki mózgowej i nadnerczy.

VI. Wykazano także aktywność glikozo-6-fosfatazy pod postacią drobnych ziarenek ułożonych w cytoplazmie otaczającej jądra komórkowe, a w niektórych naczyniach krwionośnych odczyn był tylko lekko zaznaczony. Glikozo-6-fosfataza pozostaje w łączności z retikulum endoplazmatycznym i przypisuje się jej decydujące znaczenie w regulowaniu poziomu cukru we krwi, gdyż rozszczepiając glikozo-6-fosforan dostarcza glikozy, która może przechodzić do krwioobiegu. Żydowo (68) podkreśla, że do transportu glikozy wewnątrz retikulum endoplazmatycznego konieczna jest obecność glikozo-6-fosfatazy. Podobnie jak w opisywanych dotąd enzymach aktywność glikozo-6-fosfatazy zmieniała się wyraźnie w II połowie ciąży. W 22 dniu ciąży odczyn na glikozo-6-fosfatazę tworzył charakterystyczny obraz. Występowały miejsca z wysoką reakcją enzymatyczną obok pól ze znikomą lub ujemną. Można by tu mówić o funkcjonalnym zróżnicowaniu komórek albo o indywidualnej reakcji na działanie hormonów.

VII. W szyszynce samic nieciążarnych obserwowano aktywność esterazy niespecyficznej rozszczepiającej octan alfa naftyłu w formie różnej wielkości ziarenek rozrzuconych w pineocytach, w podścielisku i śródbłónkach naczyń krwionośnych. Przy pomocy stosowanej techniki nie wykazano obecności cholinesterazy w badanych skrawkach. Gerbtzoff (18) również nie znajdował cholinesterazy w komórkach szyszynkowych. Kitay (30) uzyskał słabo dodatni odczyn na esterazy niespecyficzne w szyszynce mały, a Leduc i Wisłocki (31) u szczurów opisali mierną reakcję w komórkach i silniejszą w naczyniach krwionośnych, przy czym udoskonalenia w metodyce pozwoliły otrzymać równie wyraźne odczyny w komórkach. Miejsce lokalizacji wewnątrzkomórkowej esteraz niespecyficznych nie jest w pełni wyjaśnione. Są sugestie, że występują one w błonach mikrosomalnych, natomiast brak ich zupełnie w mitochondriach (Niemierko — 40). Przez cały okres ciąży reakcja na esterazy niespecyficzne utrzymywała się na jednakowym poziomie. Dopiero w 22 dniu ciąży w niewielkim stopniu uległ zmianie charakter odczynu enzymatycznego na esterazy niespecyficzne, co wyrażało się pojawieniem się większej ilości grubych ziaren, intensywnie wybarwionych. Reakcja na cholinesterazę nie występowała nadal, a śródbłonki naczyń krwionośnych zachowywały się podobnie we wszystkich opisanych grupach.

Uogólniając wyniki otrzymane z badań nad esterazą niespecyficzną w przebiegu ciąży nie można uchwycić istotnych różnic w jej aktywności. Nie potwierdzono również poglądu, że estrogeny wywierają hamu-

jący wpływ na aktywność esteraz niespecyficznych w każdym razie nie w odniesieniu do szyszynki.

VIII. Opisane w szyszynce zwierząt kontrolnych lipazy układały się w postaci ziarenek w okolicach przyjądrowych poza tym były bardzo aktywne w naczyniach krwionośnych. Bostelmann i wsp. (8) znaleźli substancje dające pozytywną reakcję z „tween”, w komórkach szyszynkowych szczura. Odczyn histochemiczny na lipazy w 22 dniu ciąży nasuwał analogie z reakcjami na adenozynotrójfosfatazę, pirofosfatazę tiaminową, glikozo-6-fosfatazę, a nawet fosfatazę zasadową. Obserwowano tak samo mniejsze lub większe grupy komórek z wyraźną aktywnością enzymatyczną na lipazy w strefach okołojądrowych. Można z tego wyciągnąć wniosek o podobnym oddziaływaniu gry hormonalnej na zachowanie się tych enzymów w okresie poprzedzającym poród.

IX. Odczyn histochemiczny na leucyno-aminopeptydazę odznaczał się wysoką aktywnością w szyszynce zwierząt kontrolnych i ciężarnych, co świadczy o intensywnych procesach proteolizy, w wyniku czego powstają aminokwasy, które mogą być zużyte do budowy ciał białkowych. Drobnitkie ziarenka manifestujące obecność enzymu układały się w strefach przyjądrowych. Naczynia krwionośne albo nie wykazywały zupełnie reakcji na leucyno-aminopeptydazę lub tylko w nielicznych była bardzo słabo zaznaczona. Niemi i Ikonen (39) opisali wysoką aktywność leucyno-aminopeptydazy w szyszynce szczurów niezależnie od płci, a na dodatkowe podkreślenie zasługuje, że i niezależnie od wieku. Autorzy ci wysuwają możliwość produkowania przez szyszynkę szczura substancji o charakterze białkowym.

Przestrojenie hormonalne ustroju samicy ciężarnej wywołało zmiany aktywności w większości opisywanych wyżej enzymów. Działanie hormonów sterydowych na komórki jest indywidualne, zupełnie inaczej wpływają na tzw. komórki docelowe, a inaczej na komórki innych tkanek czy narządów (Żelewski — 66).

W ciąży zazębia się skomplikowana gra hormonalna ustroju matki z procesami biochemicznymi właściwymi dla różnych okresów rozwoju płodu (Bielecki i wsp. — 7). W interpretacji uzyskanych wyników przemian enzymatycznych u szczuryc ciężarnych nie można posłużyć się w pełni danymi otrzymanymi z badań przeprowadzonych u ludzi z uwagi na istotne różnice w endokrynologii ciąży szczurów i człowieka. U kobiety potężnym narządem wewnątrzwydzielniczym staje się łożysko, które pomiędzy 12—16 tygodniem ciąży przejmuje rolę ciała żółtego, a prawidłowa jego funkcja konieczna jest do utrzymania ciąży. Natomiast u takich zwierząt, jak np. mysz, czy szczur, w ciągu całego okresu ciąży wystarczają hormony produkowane przez jajnik. Gonadotropina

łożyskowa występująca w dużych ilościach w łożysku ludzkim jest nieobecna w łożysku niższych ssaków.

Aktywność enzymów w poszczególnych okresach ciąży w znacznej mierze zależy od możliwości przestawienia się metabolizmu komórkowego wobec zaistniałych zmian hormonalnych. Porównanie aktywności poszczególnych enzymów w komórkach szyszynki dowodzi, że zasadniczo w mniejszym lub większym stopniu zmieniła się ona w II połowie ciąży. Z a w i s t o w s k i (63), badając zachowanie się różnych składników chemicznych w przystarczycach w przebiegu ciąży u szczurzyce zwrócił uwagę, że do 16 dnia nie było różnic w aktywności enzymów w porównaniu z kontrolą. Natomiast od 16 do 20 dnia ciąży zwiększyła się reakcja na fosfatę kwasną, esterazy niespecyficzne, leucyno-aminopeptydazę, dehydrogenazę kwasu bursztynowego i mlekowego oraz aminooksydazę, a nie uległa zmianie na fosfatę zasadową, lipazy, adenozynotrójfosfatę i 5-nukleotydazę. Zestawiając wyniki badań przeprowadzonych na szyszynce z wyżej opisanymi, okazuje się, że środowisko hormonalne w ciąży niejednakowo oddziałuje na aktywność enzymów rozmieszczonych w różnych narządach. Sprawdzone jest, że od momentu zadziałania bodźca hormonalnego na komórkę do chwili wystąpienia uchwytanych zmian w jej metabolizmie musi upłynąć dłuższy lub krótszy okres. Obraz enzymatyczny szyszynki z II połowy ciąży przemawia za pobudzeniem czynności gruczołowej. Funkcja poszczególnych gruczołów wewnętrznego wydzielania jest ściśle od siebie uzależniona, a wśród nich może najmniej określone jest stanowisko szyszynki.

Nawiązując do pytania postawionego na wstępie podjętych badań — czy środowisko hormonalne w ciąży wpływa na metabolizm komórek szyszynki — należy odpowiedzieć twierdząco. W przebiegu ciąży zmieniła się aktywność adenozynotrójfosfatasy, 5-nukleotydazy, pirofosfatasy tiaminowej, fosfatasy zasadowej, fosfatasy kwasnej, glikozo-6-fosfatasy, lipazy i leucyno-aminopeptydazy. Zasadniczo nie obserwowano istotnych różnic w zachowaniu się esteraz niespecyficznych. Powiązanie procesów metabolicznych aparatu Golgiego, retikulum endoplazmatycznego i lizosomów (system GERL) w oparciu o wyniki naszych badań wskazuje, że zachowanie się pirofosfatasy tiaminowej i glikozo-6-fosfatasy jest podobne, a różne w odniesieniu do fosfatasy kwasnej. Najjaskrawsze różnice wystąpiły w II połowie ciąży, a okres poprzedzający poród przyniósł zmiany w lokalizacji odczynów enzymatycznych w obrębie szyszynki. Szczególnie w wypadku adenozynotrójfosfatasy, pirofosfatasy tiaminowej, glikozo-6-fosfatasy, fosfatasy zasadowej i lipazy zaznaczały się miejsca z wybitnie dodatnią reakcją enzymatyczną lub pozbawione jej. Zjawisko to próbujemy tłumaczyć występowaniem cyklicznego rytmu pracy w pineocytach. Zwiększona aktywność enzymów, biorących

udział w syntezie białek, kwasów nukleinowych oraz w aktywnym transporcie, świadczyłaby o wzmożonym metabolizmie komórek szyszynkowych, zachodzącym pod wpływem przeobrażeń w ustroju samicy ciężarnej.

Wnioski

1. W wyniku przeprowadzonych badań histoenzymatycznych można przypuszczać, że ciąża pobudza metabolizm komórek szyszynkowych, co wyraża się zmianą aktywności i umiejscowienia odczynów adenylozotrójfosfatazy, 5-nukleotydu, pirofosfatazy tiaminowej, fosfatazy zasadowej, fosfatazy kwaśnej, glikozo-6-fosfatazy, lipazy i leucyno-aminopeptydazy. Zasadniczych różnic nie uchwycono w reakcji na esterazy niespecyficzne.

2. Obecność skupisk komórek szyszynkowych wybitnie dodatnich enzymatycznie może świadczyć o ich cyklicznym rytmie pracy.

PIŚMIENNICTWO

1. Abe T., Yamada Y., Hashimoto P. H., Shmizu N.: *Med. J. Osaka Univ.* **14**, 67—78, 1963.
2. Allen J. M.: *J. Histochem. Cytochem.* **11**, 529—541, 1963.
3. Arstila A. U.: *Electron microscopic studies on the structure and histochemistry of the pineal gland of the rat. Suppl. ad Neuroendocr. S. Karger Basel. New York 1967.* 2.
4. Bergmann W.: *Die Epiphysis cerebri. Handbuch der Mikroskopischen Anatomie Des Menschen. Möllendorff W. Springer-Verlag Berlin 1943,* 310—502.
5. Barka T.: *J. Histochem. Cytochem.* **10**, 231—232, 1962.
6. Bayerov'a G., Bayer A.: *Acta Histochem.* **10**, 276—285, 1960.
7. Bielecki M., Broniecka H., Jezuita J., Wiśniewski L.: *Ginek. pol.* **36**, 386—390, 1965
8. Bostelmann W., Bienengräber A.: *Acta Neuropath.* **2**, 461—469, 1963.
9. Bratiano S., Giugariu D.: *Arch. Anat. Microsc.* **29**, 261—284, 1933.
10. Calvet J.: *Biologie, Comptes Rendus.* **2**, 300—301, 1933.
11. Dastugue G., Thiéblot L., Bastide., Boyer J., Blaise S.: *J. Physiol. Paris.* **55**, 133—134, 1963.
12. De Martino C., Peruzy A. D., Pavoni P., Capone M., Lintas P. L.: *Folia Endocr. Roma.* **15**, 363—369, 1962.
13. Escher E., Novikoff A., Masek B.: *J. Histochem. Cytochem.* **6**, 388—389, 1958.
14. Farina G., Rindi B.: *Ateneo parmense.* **13**, 393—411, 1941.
15. Feigin H., Volf A.: *Lab. Invest.* **2**, 23—115, 1953.
16. Fiske V. M., Pound J., Putman J.: *Endocrinology.* **71**, 130—133, 1962.
17. Freiman D. G., Kaplan N.: *J. Histochem. Cytochem.* **8**, 159—170, 1960.
18. Gerebtzoff M. A.: *Cyt. wg Arstila A. U. Suppl. ad Neuroendocr. S. Karger Basel. New York 1967,* 2.
19. Grzycki S.: *Ann. Univ. M. Curie Skłodowska, Lublin. Sec. D* **6**, 297—322, 1951.

20. Grzycki S.: *Ann. Univ. M. Curie Skłodowska Lublin. Sec. D* 8, 193—231, 1953.
21. Gusek W., Buse H.: *Frankfurt. Path.* 75, 172—186, 1966.
22. Gusek W., Santaro A.: *Endokrinologie.* 41, 108—129, 1961.
23. Hardonk M. J., Boer H. G. A.: *Histochemie.* 12, 29—41, 1968.
24. Heinecke H.: *Z. Mikr. Anat. Forsch.* 65, 282—288, 1959.
25. Hungerford G. F.: *Endocrinology.* 71, 936—942, 1962.
26. Hungerford G. F., Pomerat C. M.: *Z. Zellforsch.* 57, 809—817, 1962.
27. Kappers A. J., Prop N., Braams W. G.: *Acta Morphol. Neerl. Scand.* 4, 290, 1961.
28. Karasek M.: *Fol. morph.* 26, 335—341, 1967.
29. Karasek M.: *Endokr. pol.* 16, 433—446, 1965.
30. Kitay J. I., Altschule M. D.: *The Pineal Gland.* Harvard Univ. Press. Cambridge. 1964.
31. Leduc E. H., Wisłocki G. B.: *J. Comp. Neurol.* 97, 241—280, 1952.
32. Lerner A. B.: *Nature.* 184, 674—677, 1959.
33. Lojda Z., Vecerek B., Pelichova H.: *Histochemie.* 3, 428—454, 1964.
34. Lojda Z., Zawistowski S.: *Fol. morph.* 11, 265—276, 1960.
35. Machado A. B. M., Faleiro L. C. M., Da Silva D. W.: *Z. Zellforsch.* 62, 521—529, 1965.
36. Mikami S., Tohoku J.: *J. Agricult. Res.* 2, 41—48, 1951.
37. Miline R., Verner R., Scepovic M., Devecerski V., Krstic R.: *Ann. Endocr.* 24, 380—384, 1963.
38. Miline R., Deceverski V., Krstic R.: *Ann. Endocr.* 24, 377—379, 1963.
39. Niemi M., Ikonen M.: *Nature.* 185, 982, 1960.
40. Niemierko S.: *Post. Bioch.* 11, 247—265, 1965.
41. Novikoff A. B.: *Biol. Bull.* 117, 385—395, 1959.
42. Novikoff A. B., Goldfischer S.: *Proc. Natl. Acad. Sci.* 47, 802—810, 1961.
43. Padykula H., Herman E.: *J. Histochem. Cytochem.* 3, 161—195, 1955.
44. Pawlikowski M., Karasek M.: *Endokr. pol.* 18, 153—156, 1967.
45. Pearse A. G. E.: *Histochemistry.* Churchill. Ltd. London. 1960.
46. Quay W. B.: *Exp. Cell. Res.* 10, 541—544, 1956.
47. Quay W. B.: *Z. Zellforsch.* 60, 479—490, 1963.
48. Quay W. B.: *Gen. Comp. Endocr.* 1, 211—217, 1961.
49. Quay W. B.: *Acta Morphol. Neerl. — Scand.* 5, 87—100, 1962.
50. Quay W. B.: *J. Histochem. Cytochem.* 5, 145—153, 1957.
51. Reis J. L.: *Post. Bioch.* 4, 95—106, 1958.
52. Robertis E., Iraldi P.: *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 10, 361—372, 1961.
53. Schulze W., Wollenberger A.: *Histochemie.* 5, 417—429, 1965.
54. Szymona M.: *Post. Bioch.* 11, 3—14, 1965.
55. Thiéblot L., Naudascher, Le Bars: *Ann. Endocr. (Paris).* 8, 469—472, 1947.
56. Thiéblot L., Naudascher H., Le Bars: *Ann. Endocr. (Paris).* 9, 192—194, 1949.
57. Vorbrodt A.: *Post. Hig.* 13, 200—207, 1959.
58. Wisłocki G. B., Dempsey E. W.: *Endocrinology.* 42, 56—72, 1948.
59. Wolna E.: *Post. Hig.* 22, 215—221, 1962.
60. Wurtman R. J., Axelrod J., Barchas J. D.: *J. Clin. Endocr.* 24, 299—301, 1964.
61. Zakrzewska-Henisz A.: *Post. Bioch.* 11, 161—168, 1965.

62. Zawistowski S.: *Fol. morph.* **20**, 311—317, 1961.
63. Zawistowski S.: *Fol. morph.* **22**, 316—328, 1963.
64. Zawistowski S.: *Fol. morph.* **13**, 115—128, 1954.
65. Zweens I.: *Nature.* **197**, 1114—1115, 1963.
66. Żelewski L.: *Post. Bioch.* **9**, 505—520, 1963.
67. Żydowo M.: *Post. Bioch.* **8**, 165—191, 1962.
68. Żydowo M.: *Post. Bioch.* **7**, 341—356, 1961.

Otrzymano 15 III 1969.

OBJAŚNIENIA RYCIN

Ryc. 1. Szyszynka szczura kontrolnego. Barwienie wg metody Hortegi. Wielokształtne komórki ułożone w grupach i pojedynczo. Pow. ok. 1300 ×.

Ryc. 2. Szyszynka szczura kontrolnego. Aktywny odczyn na adenozynotrójfosfatę w błonach komórkowych, cytoplazmie i jądrach. Pow. ok. 1300 ×.

Ryc. 3. Szyszynka szczura z I grupy doświadczalnej. Odczyn na adenozynotrójfosfatę bardziej gruboziarnisty w porównaniu z grupą kontrolną. Pow. ok. 1300 ×.

Ryc. 4. Szyszynka szczura z III grupy doświadczalnej. Szczególnie nasiloną reakcją na adenozynotrójfosfatę w komórkach leżących w pobliżu naczyń krwionośnych. Pow. ok. 1300 ×.

Ryc. 5. Szyszynka szczura z V grupy doświadczalnej. Naczynia krwionośne i przylegające do nich komórki z bardzo wyraźnym odczynem na adenozynotrójfosfatę. Pow. ok. 1300 ×.

Ryc. 6. Szyszynka szczura kontrolnego. Intensywny odczyn na 5-nukleotydazę w ścianach naczyń krwionośnych w jądrach komórkowych, miernie nasiloną w podścielisku. Pow. ok. 1300 ×.

Ryc. 7. Szyszynka szczura z VI grupy doświadczalnej. Zwiększyła się liczba komórek z wysoką aktywnością enzymatyczną na 5-nukleotydazę w obrębie karyoplazmy w porównaniu z poprzednią grupą doświadczalną. Pow. ok. 1300 ×.

Ryc. 8. Szyszynka szczura kontrolnego. Pozytywna reakcja na pirofosfatę tiaminową widoczna w komórkach szyszynkowych. Pow. ok. 1300 ×.

Ryc. 9. Szyszynka szczura z I grupy doświadczalnej. Zwiększyła się liczba aktywnych enzymatycznie komórek w porównaniu z grupą kontrolną. Pow. ok. 1300 ×.

Ryc. 10. Szyszynka szczura z II grupy doświadczalnej. Wzrosła aktywność pirofosfatazy tiaminowej w obrębie pineocytów. Pow. ok. 1300 ×.

Ryc. 11. Szyszynka szczura z VI grupy doświadczalnej. Między skupiskami wzmożonego odczynu na pirofosfatę tiaminową leżą pojedyncze, aktywne enzymatycznie komórki. Pow. ok. 1300 ×.

Ryc. 12. Szyszynka szczura kontrolnego. Bardzo intensywny odczyn na fosfatę zasadową w naczyniach krwionośnych i w najbliższym ich sąsiedztwie. Pow. ok. 600 ×.

Ryc. 13. Szyszynka szczura z IV grupy doświadczalnej. Skupiska odczynu barwnego na fosfatę zasadową w pobliżu naczyń krwionośnych. Pow. ok. 600 ×.

Ryc. 14. Szyszynka szczura z VI grupy doświadczalnej. Wyraźnie wzmożona aktywność na fosfatę zasadową wokół naczyń krwionośnych i w przestrzeniach międzynacyniowych. Pow. ok. 600 ×.

Ryc. 15. Szyszynka szczura z grupy kontrolnej. Obok ziarnistego odczynu na fosfatę kwasną, występowały nieliczne komórki z odczynem dyfuzyjnym. Pow. ok. 900 ×.

Ryc. 16. Szyszynka szczura z VI grupy doświadczalnej. Obok fosfatazo-dodatniego odczynu w komórkach, słabo zaznaczała się reakcja barwna w śródbłonkach naczyń krwionośnych. Pow. ok. 900 ×.

Ryc. 17. Szyszynka szczura kontrolnego. Miernie nasiloną reakcją enzymatyczną na glikozo-6-fosfatę w naczyniach krwionośnych, dodatni odczyn w komórkach. Pow. ok. 1300 ×.

Ryc. 18. Szyszynka szczura z V grupy doświadczalnej. Wzrosła intensywność odczynu na glikozo-6-fosfatę. Pow. ok. 1300 ×.

Ryc. 19. Szyszynka szczura z VI grupy doświadczalnej. Ostro zarysowują się mniejsze lub większe skupiska wzmożonego odczynu na glikozo-6-fosfatę. Pow. ok. 1300 ×.

Ryc. 20. Szyszynka szczura kontrolnego. Odczyn na esterazy niespecyficzne rozszczepiające octan alfa naftyłu widoczny w postaci różnej wielkości ziarenek. Słabo wybarwione śródbłonki naczyń krwionośnych. Pow. ok. 900 ×.

Ryc. 21. Szyszynka szczura z III grupy doświadczalnej. Liczne ziarenka w miejscach aktywności enzymatycznej na esterazy niespecyficzne. Pow. ok. 1300 ×.

Ryc. 22. Szyszynka szczura kontrolnego. Drobne ziarenka lipazododatnie rozmieszczone w okolicach naczyń krwionośnych i między naczyniami. Pow. ok. 600 ×.

Ryc. 23. Szyszynka szczura z VI grupy doświadczalnej. Wyraźnie widoczne grupy komórek z intensywnym odczynem na lipazy w okolicy jąder komórkowych. Pow. ok. 1300 ×.

Ryc. 24. Szyszynka szczura z VI grupy doświadczalnej. Silna reakcja enzymatyczna na leucyno-aminopeptydazę zupełnie równomiernie obejmowała cały przekrój gruczołu. Pow. ok. 600 ×.

РЕЗЮМЕ

Исследования проводились на двух группах белых крыс. Первую группу составляли контрольные крысы, а вторую — беременные крысы (7, 10, 13, 16, 19 и 22 дни беременности). Изучалась активность аденозинотрифосфатазы, 5-нуклеотидазы, тиаминовой пиррофосфатазы, основной фосфатазы, кислой фосфатазы, глюкозо-6-фосфатазы, неспецифических эстераз, липазы и лейцинаминопептидазы.

Результаты исследований указывают на стимулирование метаболизма эпифизных клеток во второй половине беременности. Наблюдаемые клеточные скопления вместе с сильной энзиматической активностью в случае аденозинотрифосфатазы, тиаминовой пиррофосфатазы, глюкозо-6-фосфатазы, щелочной фосфатазы и липазы свидетельствуют о циклическом ритме работы пинеоцитов.

RÉSUMÉ

Les recherches ont porté sur les rats blancs de contrôle et les rats aux 7^e, 10^e, 13^e, 16^e, 19^e et 22^e jours de grossesse. Dans la glande pinéale

on découvrirait l'activité de l'adénosinetriphosphatase, de la 5-nucléotidase, de la pyrophosphatase thiamine, de la phosphatase alcaline, de la phosphatase acide, de la glucose-6-phosphatase, des estérases non spécifiques, de la lipase et de la leucine-aminopeptidase.

Les résultats des examens histochimiques indiquent l'activation du métabolisme des cellules de la glande pinéale dans la deuxième moitié de la grossesse. La présence des agglomérations cellulaires avec une activité enzymatique remarquable, comme c'est dans le cas d'adénosinetriphosphatase, de pyrophosphatase thiamine, de glucose-6-phosphatase, de phosphatase alcaline et de lipase, suggère le rythme cyclique de l'activité des pinéocytes.

EXPLICATIONS DES FIGURES

Fig. 1. Glande pinéale du rat de contrôle. Coloration selon la méthode de Hortega. Cellules multifformes disposées en groupes ou séparément. Agrandiss. env. 1300 X.

Fig. 2. Glande pinéale du rat de contrôle. Réaction active à l'adénosinetriphosphatase dans les membranes cellulaires, le cytoplasme et les noyaux. Agrandiss. env. 1300 X.

Fig. 3. Glande pinéale du rat du I-er groupe expérimental. Réaction à l'adénosinetriphosphatase à granulations plus grosses que celles du groupe de contrôle. Agrandiss. env. 1300 X.

Fig. 4. Glande pinéale du rat du III-e groupe expérimental. Réaction particulièrement forte à l'adénosinetriphosphatase dans les cellules situées à proximité des vaisseaux sanguins. Agrandiss. env. 1300 X.

Fig. 5. Glande pinéale du rat du V-e groupe expérimental. Vaisseaux sanguins et cellules y adhérentes avec une réaction très nette à l'adénosinetriphosphatase. Agrandiss. env. 1300 X.

Fig. 6. Glande pinéale du rat de contrôle. Réaction intense à la 5-nucléotidase dans les parois des vaisseaux sanguins et les noyaux cellulaires; réaction moyenne dans le stroma. Agrandiss. env. 1300 X.

Fig. 7. Glande pinéale du rat du VI-e groupe expérimental. Augmentation du nombre des cellules avec une forte réaction enzymatique à la 5-nucléotidase dans la zone du karyoplasma. Agrandiss. env. 1300 X.

Fig. 8. Glande pinéale du rat de contrôle. Réaction positive à la pyrophosphatase thiamine visible dans les cellules de la glande pinéale. Agrandiss. env. 1300 X.

Fig. 9. Glande pinéale du rat du I-er groupe expérimental. Faible augmentation du nombre des cellules enzymatiquement actives en comparaison avec le groupe de contrôle. Agrandiss. env. 1300 X.

Fig. 10. Glande pinéale du rat du II-e groupe expérimental. Augmentation de l'activité de la pyrophosphatase thiamine dans la zone des pinéocytes en comparaison avec le I-er groupe expérimental. Agrandiss. env. 1300 X.

Fig. 11. Glande pinéale du rat du VI-e groupe expérimental. Cellules isolées, enzymatiquement actives, situées parmi les centres de réaction intense à la pyrophosphatase thiamine. Agrandiss. env. 1300 X.

Fig. 12. Glande pinéale du rat de contrôle. Réaction intense à la phosphatase alcaline dans les vaisseaux sanguins et dans leur voisinage le plus proche. Agrandiss. env. 600 ×

Fig. 13. Glande pinéale du rat du IV-e groupe expérimental. Agglomérations de la réaction colorante à la phosphatase alcaline à proximité des vaisseaux sanguins. Agrandiss. env. 600 ×.

Fig. 14. Glande pinéale du rat du VI-e groupe expérimental. Activité nettement augmentée à la phosphatase alcaline autour des vaisseaux sanguins et dans les espaces intervasculaires. Agrandiss. env. 600 ×.

Fig. 15. Glande pinéale du rat du groupe de contrôle. Cellules peu nombreuses avec la réaction diffuse, à côté de la réaction granulaire à la phosphatase acide. Agrandiss. env. 900 ×.

Fig. 16. Glande pinéale du rat du VI-e groupe expérimental. À côté de la réaction positive à la phosphatase dans les cellules, une faible réaction colorante dans l'endothélium des vaisseaux sanguins. Agrandiss. env. 900 ×.

Fig. 17. Glande pinéale du rat de contrôle. Réaction enzymatique moyenne à la glucose-6-phosphatase dans la vaisseaux sanguins; réaction positive dans les cellules. Agrandiss. env. 1300 ×.

Fig. 18. Glande pinéale du rat du V-e groupe expérimental. Augmentation de l'intensité de la réaction à la glucose-6-phosphatase. Agrandiss. env. 1300 ×.

Fig. 19. Glande pinéale du rat du VI-e groupe expérimental. Agglomérations plus ou moins grandes et bien distinctes de la réaction intense à la glucose-6-phosphatase. Agrandiss. env. 1300 ×.

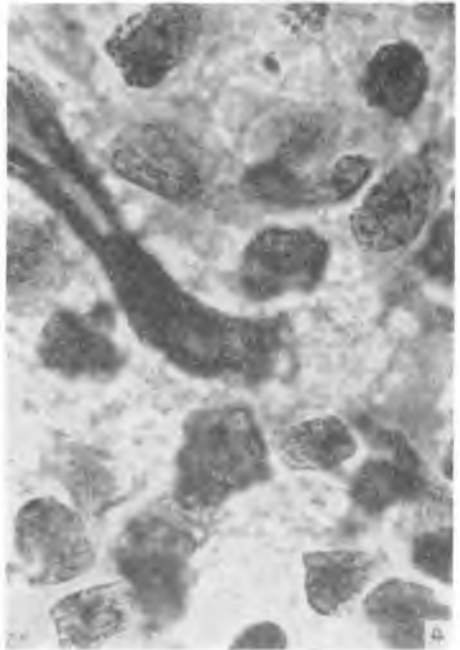
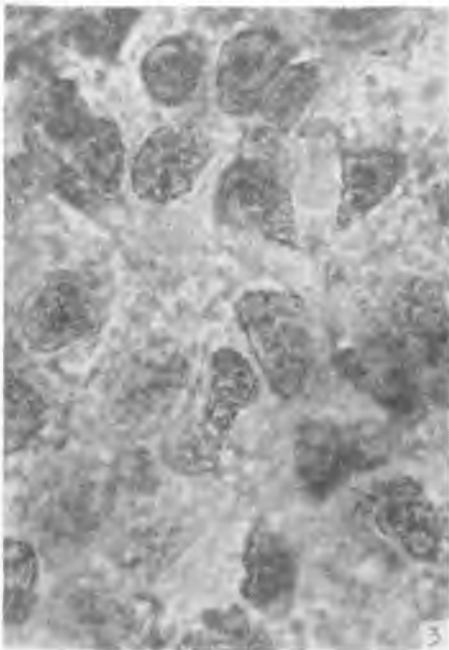
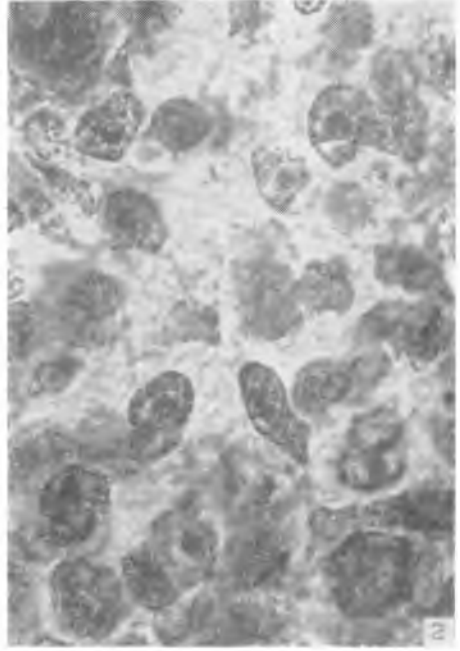
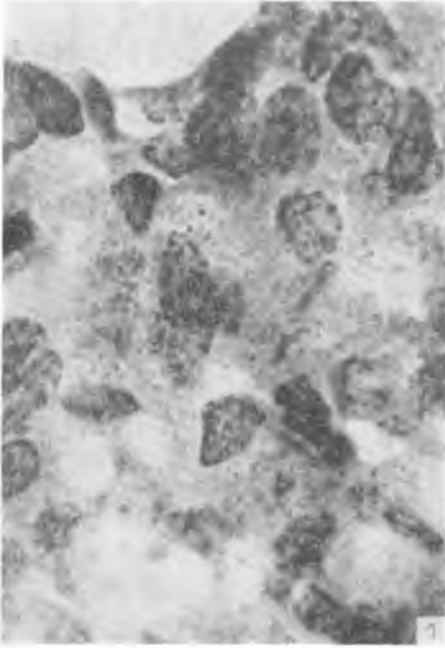
Fig. 20. Glande pinéale du rat de contrôle. Réaction aux estérases non spécifiques décomposant l'acétate d'alpha-naphtyl, visible sous forme de granules de diverses dimensions. Épithéliums des vaisseaux sanguins peu colorés. Agrandiss. env. 900 ×.

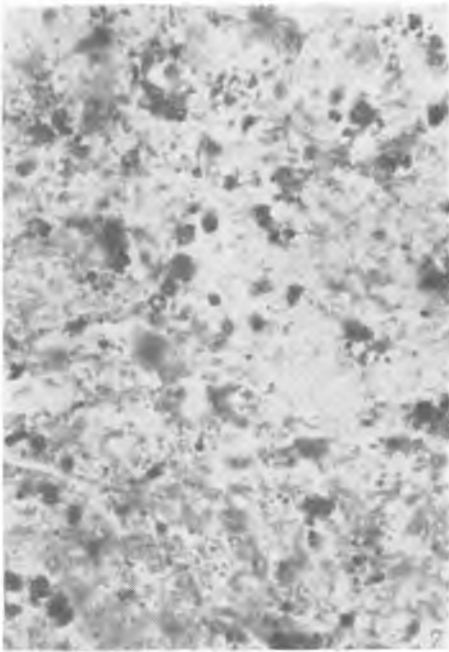
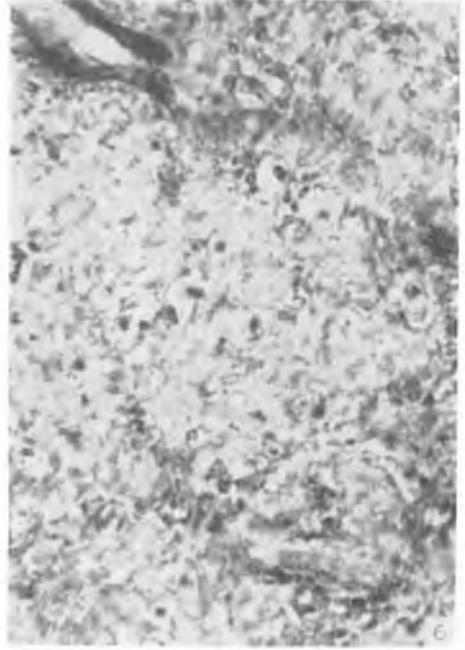
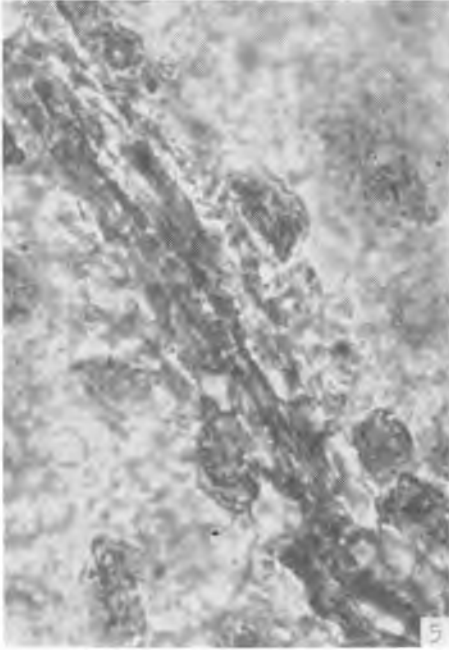
Fig. 21. Glande pinéale du rat du III-e groupe expérimental. Nombreuses granulosités dans les endroits de l'activité enzymatique aux estérases non spécifiques. Agrandiss. env. 1300 ×.

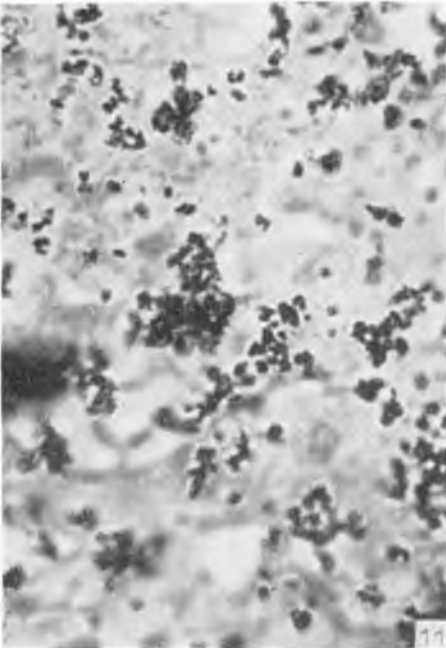
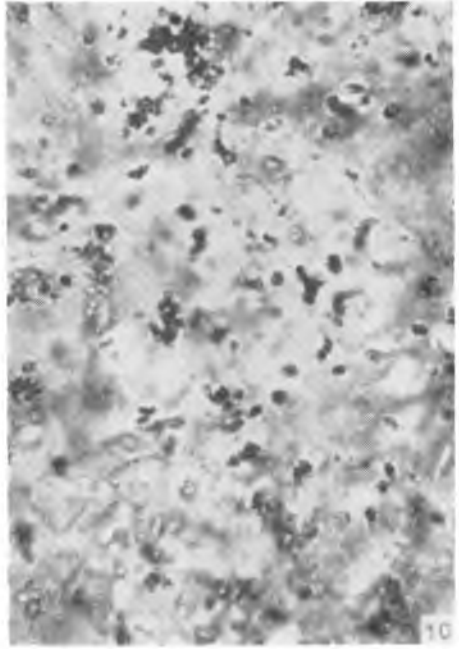
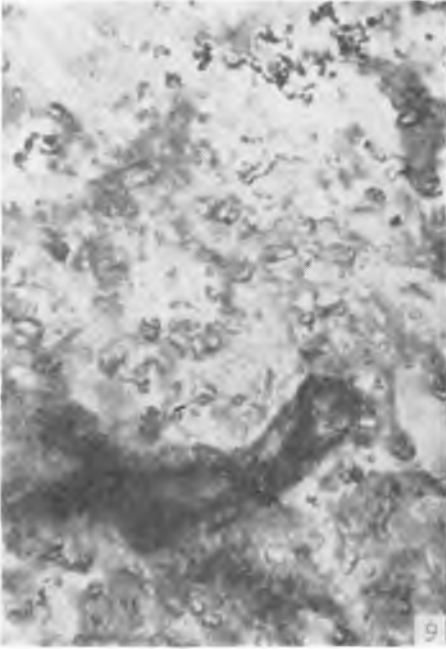
Fig. 22. Glande pinéale du rat de contrôle. Fines granulosités lipaso-positives situées aux environs des vaisseaux sanguins et entre eux. Agrandiss. env. 600 ×.

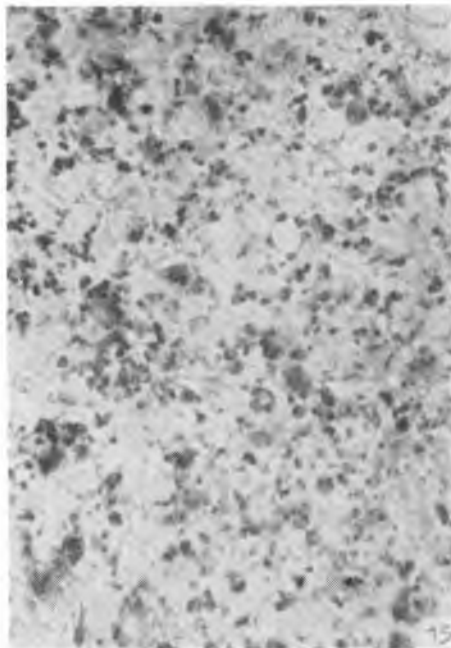
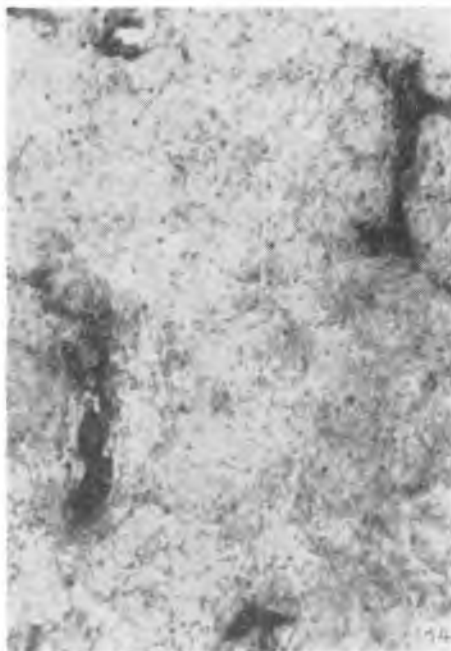
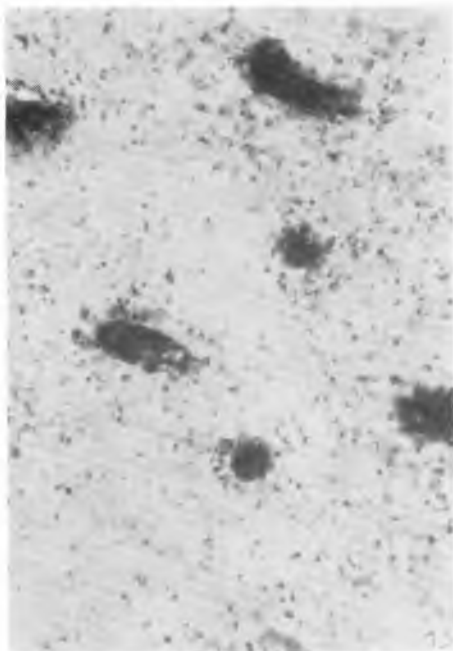
Fig. 23. Glande pinéale du rat du VI-e groupe expérimental. Groupes très distincts de cellules avec une réaction intense aux lipases à proximité des noyaux cellulaires. Agrandiss. env. 1300 ×.

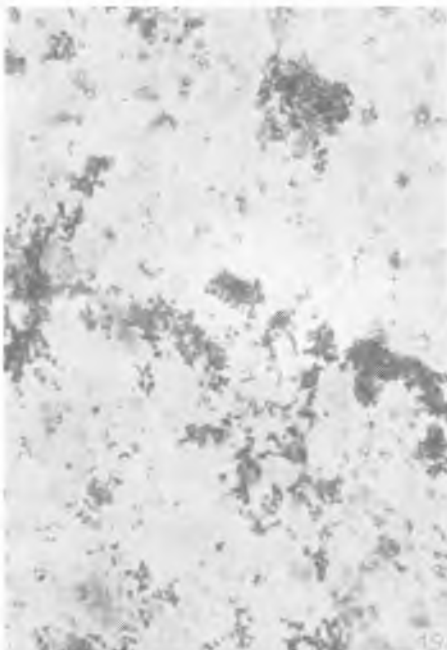
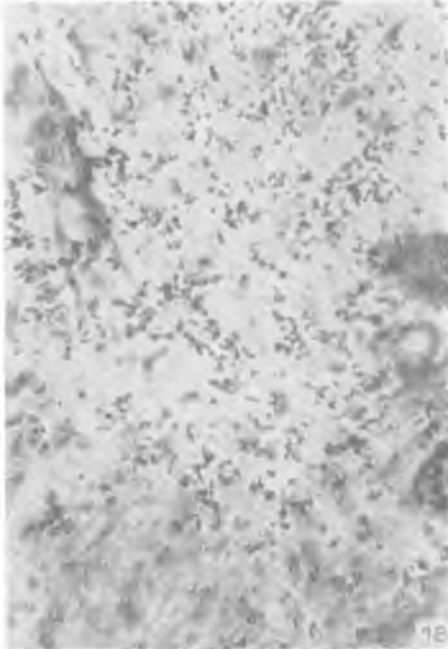
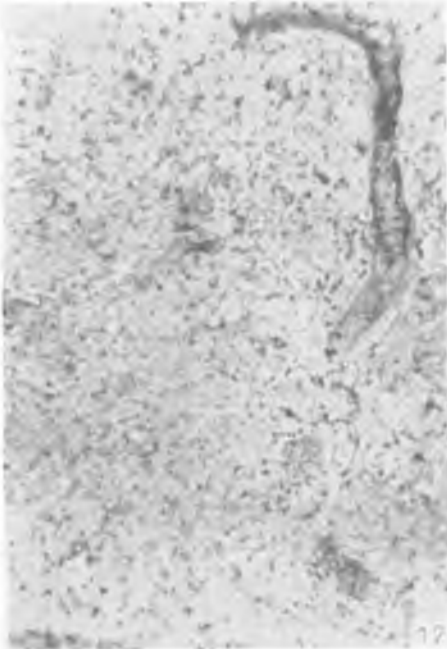
Fig. 24. Glande pinéale du rat du VI-e groupe expérimental. Réaction enzymatique intense à la leucine-aminopeptidase très régulière dans toute la coupe de la glande. Agrandiss. env. 600 ×.

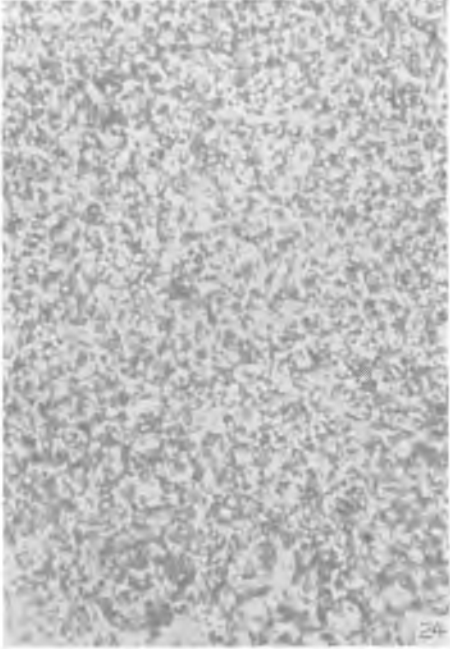
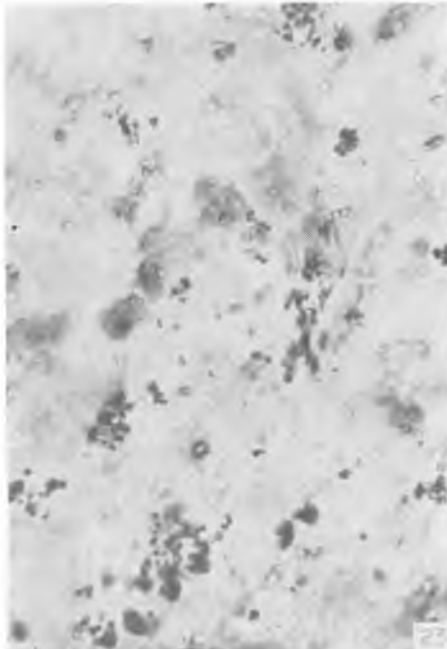
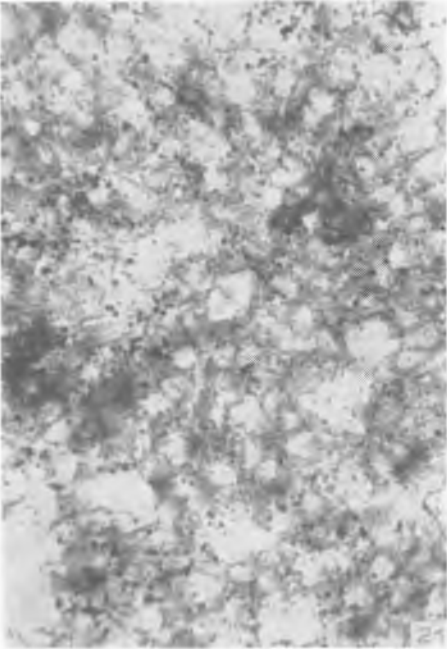












Grażyna Rzeszowska-Tokarska