

Katedra i II Klinika Chirurgiczna. Wydział Lekarski. Akademia Medyczna w Lublinie  
Kierownik: doc. dr med. Mieczysław Zakryś  
Katedra i Zakład Histologii i Embriologii. Pracownia Cytologii Doświadczalnej. Wydział Lekarski  
Akademia Medyczna w Lublinie  
Kierownik: prof. dr med. Stanisław Grzycki

Marian OPOLSKI, Józef STASZYC, Zbigniew FRELEK

### **Badania histochemiczne własnopochodnych przeszczepów skóry ludzkiej**

Гистохимические исследования собственных трансплантатов кожи человека

Examens histochimiques des greffe cutanées autoplastiques chez l'homme

Przeszczepy skóry są coraz częściej stosowane w chirurgii odtwórczej, w niektórych schorzeniach, a przede wszystkim w przypadkach pourazowych i ubytkach termicznych (Billigham, 1963, Cannon i współ, 1967, Opolski, 1967).

Mimo obserwacji procesów wgajania się własnopochodnych przeszczepów skóry (Wolff, 1963, 1964; Ziętkiewicz, 1965) nie wyjaśniono jednak przyczyn niepowodzeń klinicznych (Wolff i Schellander, 1965, 1966). Sądzymy więc, że przebadanie aktywności enzymów wewnątrzkomórkowych świadczących o metabolizmie przeszczepów skóry będzie interesujące tak ze względów teoretycznych, jak i praktycznych.

### **MATERIAŁ I METODY BADAŃ**

Wśród 30 chorych leczonych przeszczepami skóry było 24 mężczyzn i 6 kobiet, w wieku od 19 do 72 lat. Biorąc pod uwagę podłoże, na które przeszczepiano płyty skóry, operowanych pacjentów podzielono na dwie grupy: pierwszą tworzyli chorzy, u których ubytki skóry pokrywano doraźnie przeszczepami pierwotnymi, zaś drugą — ci chorzy, których operowano w okresie późniejszym od obrażeń i przeszczep wtórny nakładano na podłoże ziarninowe. Materiał do badań histochemicznych uzyskiwano przy korekcji blizn lub pobierano z płyta za zgodą chorego. Badania te przeprowadzano po 12 dniach, 6 tygodniach, jednym roku i trzech latach od chwili zabiegu operacyjnego.

Po znieczuleniu miejscowym 0,5% nowokainą pobrane wycinki utrwalano w zimnym płynie Bakera, a następnie krajano na mikrotomie mroźniowym. Adenozynotrójfosfatazę (ATP-azę) wykrywano wg m. Wachsteina i Meisela inkubując skrawki w temp. 37°C w ciągu 30 minut. Fosfatazę kwaśną (Fk) i zasadową (Fz) oznaczano metodą sprzęgania barwników dwuazowych wg Pearse'a.

## BADANIA WŁASNE

## Przeszczepy skóry pierwotne

Podobnie jak w skórze zdrowej odczyn na ATP-azę był widoczny we wszystkich warstwach przeszczepu, choć w różnym stopniu jego nasilenia. W komórkach naskórka zaznaczył się w cytoplazmie i w jądrach w formie niewielkich ziarnistości, z tym że nieco silniejsze reakcje były przy błonie komórkowej. W skórze właściwej dodatnie odczyny wykazano w śródbłonku naczyń i komórkach tkanki łącznej. Natomiast w elementach włóknistych był on słaby i dyfuzyjny.

O ile w skórze zdrowej odczyn na Fk we wszystkich komórkach był w cytoplazmie ziarnisty i jednolity, to w przeszczepie wykazywał nieznaczne zróżnicowanie aktywności. Najsilniejsze odczyny zanotowano w komórkach okolicy brodawkowej. W cytoplazmie komórek skóry właściwej oraz tkanki podskórnej odczyn fosfatazo-dodatnich reakcji na Fk był nieco mniejszy niż w materiale kontrolnym.

Na preparatach porównawczych słabo dodatni odczyn na Fz zaznaczył się w błonach komórkowych zarówno naskórka, jak i skóry właściwej. W przeszczepie aktywność Fz nieco zmalała, i to przede wszystkim w komórkach warstw brodawkowej i siateczkowej. Nieznaczną aktywność na tę fosfatazę wykazywał śródbłonek naczyń krwionośnych. W tej grupie materiału doświadczalnego podobnie jak w poprzednich, była zachowana granica przeszczepu.

## Przeszczepy skóry wtórne

W porównaniu z materiałem kontrolnym i przeszczepami pierwotnymi w naskórku zmalała aktywność na ATP-azę. Natomiast komórki łącznotkankowe skóry właściwej zachowały niezmienną aktywność na ten enzym. Nasilone odczyny wykazywały ściany naczyń krwionośnych wnikających do przeszczepu z podłoża (ryc. 1).

W dwunastodniowym przeszczepie wtórnym Fk dała odczyny pozytywne w naskórku, w komórkach tkanki łącznej i w śródbłonku naczyń żylnych i tętniczych (ryc. 2). W materiale pochodzącym z przeszczepu wtórnego, w którym wystąpiły zwłóknienia, aktywność na Fk nie tylko zmalała, ale i była nierównomierna w warstwach naskórka. Najsilniejszą aktywność wykazywały tutaj komórki leżące na wierzchołkach brodawek skórnych.

Podobne zróżnicowanie enzymatyczne zaznaczyło się w przeszczepie dwunastodniowym i w reakcjach na Fz. Intensywność odczynu w warstwach powierzchniowych była mniejsza niż w części niezrogowaciałej naskórka. W skórze właściwej widoczne było obniżenie aktywności na obecność Fz, zmniejszenie liczby elementów komórkowych, zwłóknienie i słabsze unaczynienie (ryc. 3).

## Blizny

Naskórek uległ zcieńczeniu, a granica skórno-naskórkowa wygładzeniu. Aktywność ATP-azy była obniżona i jednakowa we wszystkich warstwach. Naczynia

krwionośne obecne w skórze właściwej wydawały się być poszerzone, o dość silnym odczynie śródbłonna na ten enzym (ryc. 4).

W obrazie histologicznym drobnoziarniste odczyny na Fk obserwowano tylko w warstwach żywych naskórka. W pozostałych natomiast komórkach naskórka Fk dała odczyny dyfuzyjne. W skórze właściwej brak było również ziarnistych odczynów w lizosomach na tę fosfatazę.

Na całym przekroju preparatów blizny odczyny na Fz były w błonach komórkowych słabo dodatnie, nierównomierne, a przeważnie ujemne. Zachowaną aktywność enzymatyczną miały tylko naczynia krwionośne w obrębie śródbłonna.

### OMÓWIENIE WYNIKÓW I WNIOSKI

Obserwacje histochemiczne dokonane na przeszczepach pierwotnych wykazały nieznaczne zmiany aktywności enzymatycznej ATP-azy, która bierze udział w syntezie kwasów nukleinowych oraz w gospodarce fosforanem organicznym. Uważamy, że obniżenie aktywności tej fosfatazy oraz Fz w przeszczepach pierwotnych świadczyć może o gorszym jego ukrwieniu w pierwszym okresie po zabiegu operacyjnym. Zachwianie aktywności enzymatycznej Fk można natomiast tłumaczyć wg Pearse'a (1960) i innych zmianą ilości soli wapniowych przenikających przez śródbłonek naczyń w zaburzonej gospodarce wapniowej.

W grupie chorych z przeszczepami wtórnymi płyty skóry przyjmowały się trudniej, a po wgojeniu ich stan kliniczny, czynnościowy i kosmetyczny był gorszy. Przyczyn tego należy szukać w czynnikach ogólnoustrojowych (Ziętkiewicz, 1965; Naumik, 1967; Opołski, 1969), choć naszym zdaniem niepoślednią rolę odgrywa tutaj ziarnina podłoża, metabolizm przeszczepionego płata oraz produkty rozpadu tkankowego z pola operacyjnego. Nie ulega wątpliwości, że wgajanie się przeszczepu skóry zależy od jego ukrwienia, a w przeszczepach wieloetapowych jeszcze i od odczynu autoimmunologicznego. Kania (1960) uważa, że przeszczep pierwotny wgaja się jak rana przez rychłozrost, a wtórny — w warunkach stanu zapalnego. We wszystkich preparatach tej grupy doświadczalnej obserwowaliśmy zmiany aktywności enzymatycznej obejmującej jednocześnie nabłonek i skórę właściwą, co Grzycki, Błażewski i Staszyc (1954) tłumaczą łącznością czynnościową i odżywczą tych różnych rozwojowo tkanek. Stwierdziliśmy różnice enzymatycznej aktywności pomiędzy przeszczepami pierwotnymi i wtórnymi. Znaczne obniżenie odczynów ATP-azy biorącej udział w syntezie białek w komórce, szczególnie w przeszczepach wtórnych, a przede wszystkim w bliznach świadczyć może o obniżeniu metabolizmu tkankowego. Zmiany aktywności Fk, aż do odczynów dyfuzyjnych wskazują na uszkodzenie oddychania komórkowego oraz fosforylacji i defosforylacji (Hesser i współ., 1960), a także nasilenia procesów hydrolitycznych (Miks, 1964). Unaczynienie przeszczepów wtórnych było mniejsze niż przeszczepów pierwotnych, co znalazło wyraz w reakcjach na Fz, która bierze udział w transporcie substancji z krwi do tkanek i odwrotnie.

Na podstawie uzyskanych wyników histochemicznych sądzimy, że istnieje współzależność w czasie między aktywnością enzymatyczną a stanem klinicznym przeszczepów skórnych, co upoważnia nas do postawienia następujących wniosków:

1. Aktywność enzymatyczna na ATP-azę, Fk, Fz pierwotnych przeszczepów jest podobna do skóry prawidłowej.
2. Wtórne przeszczepy wykazują nieco odmienne reakcje enzymatyczne na przebadane fosfatazy w zestawieniu ze skórą zdrową.

#### PIŚMIENNICTWO

1. Billigham R.E.; J. Invest. Derm. **41**, 165—171, 1963.
2. Cannon B., Murray J. E.: J. A. M. A. **200**, 663—665, 1967.
3. Grzycki S., Błażewski L., Staszyc J.: Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Lublin, sec. D. **9**, 89—98, 1954.
4. Hesser F.H. Perret G.E.: Gastroenterology, **38**, 231—246, 1960.
5. Kania H.: Zarys chirurgii wytwórczej, PZWL, Warszawa 1960.
6. Miks B.: Folia Biologica, **12**, 443—449, 1964.
7. Naumik A.: Pol. Tyg. Lek. **22**, 819—822, 1967.
8. Opolski M.: Przegl. Derm. **54**, 471—478, 1967.
9. Opolski M.: Badania kliniczne i histochemiczne własnopochodnych przeszczepów skóry u ludzi. Praca doktorska. Biblioteka A. M. w Lublinie, 1969.
10. Pearse A. G.: Histochemistry, J. A. Churchill, London 1960.
11. Wolff K.: Arch. Klin. Exp. Derm. **1**, 216—219, 1963.
12. Wolff K.: Arch. Klin. Exp. Derm. **2**, 218—221, 1964.
13. Wolff K., Schellander F. G.: J. Invest. Derm. **45**, 38—41, 1965.
14. Wolff K., Schellander F. G.: J. Invest. Derm. **46**, 205—213, 1966.
15. Ziętkiewicz W.: Pol. Tyg. Lek. **20**, 390—392, 1965.

Otrzymano 2. III. 1971.

#### OBJAŚNIENIA RYCIŃ

Ryc. 1. Przeszczep wtórny. Widoczny odczyn na adenozynotrójfosfatazę w komórkach i śródbłonku naczyń. Metoda Wachsteina i Meisela. Pow. 40 x.

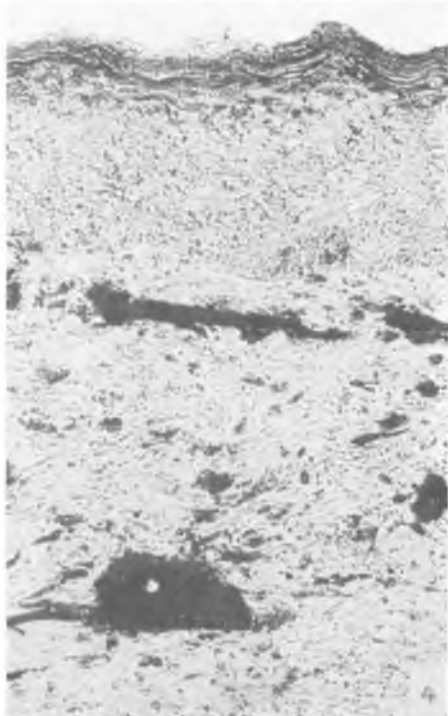
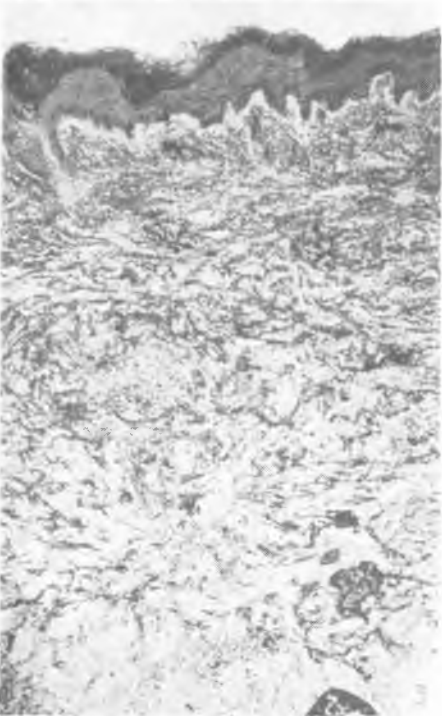
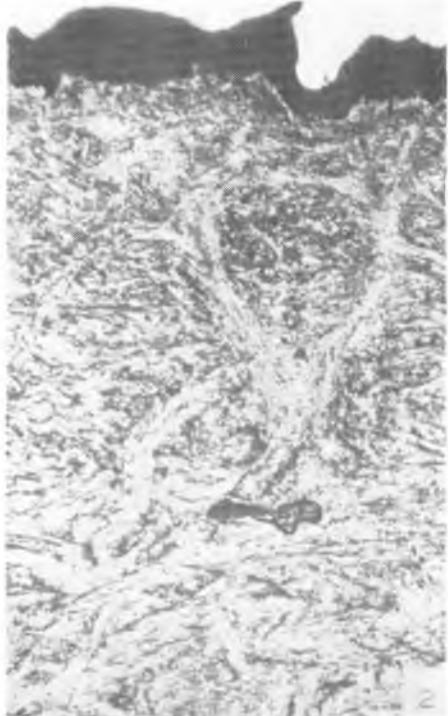
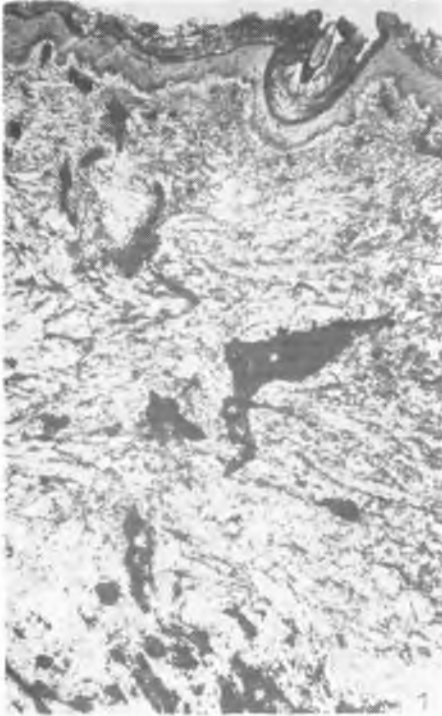
Ryc. 2. Przeszczep wtórny. Odczyn na fosfatazę kwaśną. Metoda sprzęgania barwników dwuazowych wg Pearse'a. Pow. 40 x.

Ryc. 3. Przeszczep wtórny. Odczyn na fosfatazę zasadową. Metoda sprzęgania barwników dwuazowych wg Pearse'a. Pow. 40 x.

Ryc. 4. Bliźna. Wygładzenie granicy skórno-naskórkowej. Odczyn na adenozynotrójfosfatazę. Metoda Wachsteina i Meisela. Pow. 150 x.

#### РЕЗЮМЕ

С согласия больного брали кожу при коррекции шрамов или от лоскута. При гистохимических исследованиях проверяли активность аденозинотрифосфатазы, кислой и основной фосфатаз. Энзиматические реакции на иссле-



Marian Opolski, Józef Staszyc, Zbigniew Frelek



дованные энзимы в первичных трансплантатах и нормальной коже были подобны. Зато вторичные трансплантаты показывали понижение клеточного метаболизма.

## RÉSUMÉ

Les auteurs après le consentement du malade, faisaient des prélèvements cutanés lors de la correction des cicatrices ou provenant des autres endroits. On faisait des examens histochemiques de l'activité de l'adenosinetriphosphatase (ATP-ase), de la phosphatase acide et de la phosphatase alcaline. Les réactions enzymatique, aux enzymes examinés dans les greffes primaires ressemblaient à la peau normale, tandis que les greffes cutanées secondaires démontraient la diminution du métabolisme cellulaire.

## EXPLICATION DES FIGURES

Fig. 1. Greffe secondaire. Réaction visible à l'adénosine — triphosphatase dans les cellules et dans l'interépithélium des vaisseaux. Méthode de Wachstein et Meisel. Agrandiss. 40x.

Fig. 2. Greffe secondaire. Réaction à la phosphatase acide. Méthode de couplage des colorants diazotiques selon Pearse. Agrandiss. 40x.

Fig. 3. Greffe secondaire. Réaction à la phosphatase alcaline. Méthode de couplage des colorants diazotiques selon Pearse. Agrandiss. 40x.

Fig. 4. Cicatrice. Aplatissement de la limite cutano — épidermique. Réaction à l'adénosine — triphosphatase. Méthode de Wachstein et Meisel. Agrandiss. 150x.

