

4. Kotowski K.: Profilaktyka syndromu MMA u loch z zastosowaniem preparatu Ridzol P. *Medycyna Wet. (w druku)*.
5. Klawe W., Lenartowicz Z.: Materiały z sesji problemowej „Aktualne aspekty profilaktyki i leczenia dyzenterii u świń”. Warszawa — Ursynów, 1975.
6. Krautforst W., Kozłowski M.: *Medycyna Wet.* 22, 616, 1965.
7. Lenartowicz Z., Klawe W., Bielecka J.: Materiały z sesji problemowej „Aktualne aspekty profilaktyki i leczenia dyzenterii u świń”. Warszawa — Ursynów, 1975.
8. Mazurczak J.: Materiały z sesji problemowej „Aktualne aspekty profilaktyki i leczenia dyzenterii u świń”. Warszawa — Ursynów, 1975.
9. Mazurczak J., Klawe W., Owczarczyk B.: *Prz. hod.* 45, 9, 1978.
10. Oktaba W.: *Elementy statystyki matematycznej i metodyka doświadczalnictwa*, PWN, 1962.
11. Sutherland J. H.: Materiały z sesji problemowej „Aktualne aspekty profilaktyki i leczenia dyzenterii u świń”. Warszawa — Ursynów, 1975.
12. Taylor D. J.: Materiały z sesji problemowej „Aktualne aspekty profilaktyki i leczenia dyzenterii u świń”. Warszawa — Ursynów, 1975.

Adres autora: dr Karol Kotowski, 63-630 Rychtal, woj. Kalisz.

PATOLOGIA I TERAPIA

CZESŁAW KASZUBKIEWICZ, JANUSZ A. MADEJ, KORNEL RATAJCZAK

Badanie odczynu żernego komórek podścieliska w samoistnych nabłonkowcach gruczołu mlekowego u suk

Z Instytutu Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych oraz z Instytutu Patologii i Terapii Zwierząt Wydziału Weterynaryjnego AR we Wrocławiu

Wokół każdego niemal nowotworu złośliwego powstaje naciek z komórek fagocytarnych (żernych). Naciek taki można również obserwować w nowotworach łagodnych, zwłaszcza przy mechanicznym ich drażnieniu. W związku z powyższym budzi zainteresowanie udział niespecyficznych komórek fagocytarnych skierowanych przeciwko rozwiniętemu w ustroju nowotworowi. Dobrym wyznacznikiem aktywności fagocytarnych komórek żernych jest fosfataza kwaśna (EC 3.1.3.2) oraz w mniejszym stopniu fosfataza zasadowa (EC 3.1.3.1).

Celem badań było określenie aktywności obu wspomnianych enzymów w komórkach fagocytarnych towarzyszących samoistnym gruczolakom oraz gruczolakorakom gruczołu mlekowego suk.

Materiały i metody

Badania obejmowały 25 guzów nowotworowych gruczołu mlekowego suk, usuniętych operacyjnie; wśród nich 15 gruczolakoraków miękkich (*adenocarcinoma medullare*) oraz 10 gruczolaków cewkowych (*adenoma tubulare*). Materiał doświadczalny pochodził od suk starych (8-12-letnich) różnych ras. Do badań histoenzymatycznych pobierano wycinki guzów *intra operationem*, utrwalono w zimnym płynie Backera przez 18 godzin, a następnie cięto w kriostacie na skrawki grubości 8 mikronów. Fosfatazę kwaśną (FK) wykrywano metodą precypitacyjną Gomoriego (6) w niepublikowanej modyfikacji Vorbrodta, zaś fosfatazę zasadową (FZ) metodą Gomoriego (6). Skrawki dla obu enzymów inkubowano przez 45 miut w temperaturze 310 K. Preparaty kontrolne (tzw. kontrola ujemna) inkubowano bez użycia substratu. Kontrolę stanowiły wycinki gruczołu mlekowego 4 zdrowych suk.

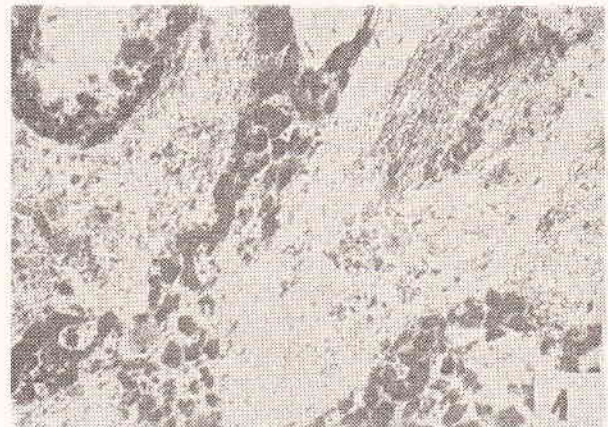
Jednocześnie pobierano do badań histopatologicznych wycinki z guzów nowotworowych, jak również z tkanki prawidłowej i barwiono je rutynowo hematoxyliną i eozyną.

Wyniki i omówienie

W gruczolakorakach obserwowano w obrazie histopatologicznym ogniskowe lub rozlane na-

cieczenie tkanki okołonowotworowej dużą ilością komórek fagocytarnych, złożonych przede wszystkim z histiocytów, limfocytów i nielicznych neutrofilów. Część histiocytów i neutrofilów ulegała rozpadowi. W 3 przypadkach gruczolakoraków naciek komórek żernych był znikomy. W gruczolakach komórki fagocytarne były nieliczne i z reguły układały się ogniskowo wokół cew nowotworowych. Pojedyncze komórki żerne spotykano również w podścielisku prawidłowej tkanki gruczołowej sutka.

Fosfataza kwaśna: enzym ten lokalizował się w lizosomach komórek fagocytarnych, komórkach nabłonka gruczołowego nowotworowo zmienionego oraz w komórkach tkanki prawidłowej. Komórki fagocytarne występowały bardzo obficie w podścielisku gruczolakoraków, pojedynczo w gruczolakach i gruczole zwierząt kontrolnych. W porównaniu z kontrolą aktywność FK była w komórkach fagocytarnych nowotworów z reguły wyraźnie wzmożona, czasem tylko słabsza i to w przypadku ich rozpadu. Obserwowano wówczas odczyn dyfuzyjny na ten enzym. W licznych komórkach żernych towarzyszących nowotworom spotykano większą ilość lizo-



Ryc. 1. Aktywność FK w komórkach fagocytarnych podścieliska w gruczolaku gruczołu mlekowego. Pow. ok. 220×

somów o różnej wielkości, aniżeli w tychże komórkach u zwierząt kontrolnych.

W obrębie komórek nabłonka nowotworowego aktywność fosfatazy kwaśnej była różna, zwykle wyraźna i utrzymała się na poziomie kontroli. Na ogół w lizosomach komórek gruczolakoraków była ona nieznacznie intensywniejsza (ryc. 2), aniżeli w lizosomach komórek gruczolaków (ryc. 1). Nierzadko obserwowano ponadto w obrębie komórek nabłonka tworzenie się pojedynczych sekwestrów komórkowych. Zjawisko to spotykano w obu typach nowotworów.

Fosfataza zasadowa: enzym ten lokalizował się w błonach komórkowych oraz części nadjądrowej cytoplazmy komórek fagocytarnych, komórek nabłonka nowotworowo zmienionego (ryc. 3 i 4) oraz w komórkach tkanki prawidłowej. W komórkach fagocytarnych aktywność FZ, w porównaniu z kontrolą była wyraźnie silniejsza, słabsza nieco w przypadku ich uszkodzenia. Aktywność fosfatazy zasadowej w komórkach gruczolowych w obu typach nowotworów na ogół nie różniła się od kontroli.

Dane dotyczące zachowania się enzymów hydrolitycznych w komórkach żernych podścieliska nowotworowego są skąpe. Woods i wsp. (23) obserwowali wyraźną aktywność fosfatazy kwaśnej i esterazy niespecyficzej w makrofagach szczurów szczepu Wistar, u których wywoływali doświadczalnie włóknakiomięsaki przy pomocy metylocholantrenu. Nie obserwowali natomiast różnic w ilości makrofagów występujących w tkance nowotworowej i niezmienionej. Hliniak i wsp. (9) oznaczali aktywność fosfatazy zasadowej oraz fosfatazy kwaśnej w makrofagach podścieliska raków skóry u ludzi, przed i po stosowaniu promieni X, i stwierdzili silną aktywność obu enzymów po zastosowanym leczeniu. Kostulak i wsp. (11) oznaczali aktywność fosfatazy kwaśnej, beta glukuronidazy i sulfatazy arylowej w makrofagach otrzewnowych chomików, którym przeszczepiono czerniaka melanocytynicznego linii Ma (Gdańsk) i stwierdzili wzrost aktywności wymienionych enzymów w porównaniu ze zwierzętami kontrolnymi. Uzyskane rezultaty potwierdzają wpływ przeszczepionego czerniaka na enzymy lizosomalne makrofagów i na ich reaktywność w procesie nowotworowym. Zdaniem autorów (11) udział makrofagów w procesach immunologicznych wywołanych wzrostem nowotworu jest niewątpliwy.

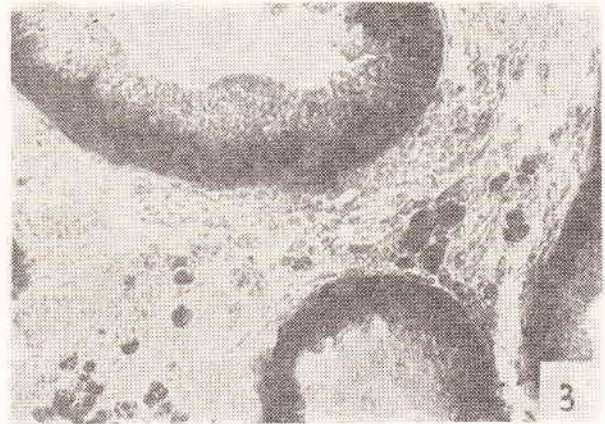
Gierek i wsp. (5) stwierdzili we krwi osób chorych na raka krtani wzrost aktywności fosfatazy kwaśnej i beta glukuronidazy, co prawdopodobnie związane jest z odpowiedzią immunologiczną ustroju na obecność swoistych antygenów tkanki nowotworowej. Zdaniem tych autorów zjawisko to może być też wynikiem towarzyszących nowotworowi nacieków zapalnych.

W badaniach własnych obserwowano wzmoczoną w stosunku do kontroli aktywność fosfatazy kwaśnej w lizosomach nieuszkodzonych komórek żernych, co szczególnie wyraźnie było widoczne w ogniskach nacieku wokół gruczolakoraków. Odczyn na fosfatazę kwaśną w opisywanych komórkach świadczy o ich wzmoczonej fagocytności. W niektórych komórkach wzrost aktywności metabolicznej ujawnił się ponadto większą ilością i wielkością lizosomów.

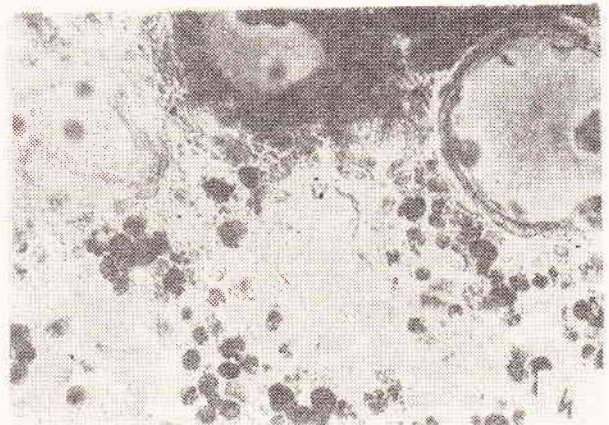
Tego rodzaju zmiany są według Kuratowskiej (14) cechą komórek lepiej przystosowanych do czynności fagocytarnej. Z kolei w komórkach ulegających rozpadowi obserwowano odczyn dy-



Ryc. 2. Aktywność FK w komórkach fagocytarnych podścieliska w gruczolakoraku gruczołu mlekowego. Pow. ok. 220×



Ryc. 3. Aktywność FZ w komórkach fagocytarnych podścieliska w gruczolaku gruczołu mlekowego. Pow. ok. 220×



Ryc. 4. Aktywność FZ w komórkach fagocytarnych podścieliska w gruczolakoraku gruczołu mlekowego. Pow. ok. 220×

fuzyjny na fosfatazę kwaśną. Zjawisko to, jak wynika z badań Novikoffa i Essnera (18), zachodzi w warunkach niedotlenienia i zakwaszenia tkanki.

Fosfataza kwaśna jest enzymem hydrolitycznym, stanowiącym wyznacznik między innymi lizosomów komórek żernych, a tym samym pośrednio i lizozymu (muramidazy). Wykryto go obok innych hydrolaz w lizosomach neutrofilów (3, 10) oraz makrofagów (4, 17, 20). Enzym ten odgrywa dużą rolę w odporności naturalnej ustroju, jako czynnik immunologicznie nieswoisty.

Jak wynika z badań Kotza i wsp. (12) dotyczących zapalenia gruczołu mlekowego u krów, występuje wyraźna współzależność między ilością komórek żernych a aktywnością lizozymu, będących źródłem tego enzymu.

Wzmoczona aktywność fosfatazy kwaśnej w komórkach żernych, zarówno wokół złośliwych, jak i łagodnych nabłonkowców gruczołu mlekowego u suk, świadczy o czynnej obronie ustroju, tym wyraźniejszej, im nowotwór jest bardziej złośliwy. Towarzyszy temu wzrost aktywności lizozymu, co przemawia z kolei za nasileniem się nieswoistej odpowiedzi immunologicznej.

Wiadomo również, co wynika z badań Hanse- na wsp. (7), Ossermana i wsp. (19) oraz Wiernika i Serpicka (22), że lizozym posiada pewną zdolność niszczenia komórek nowotworowych.

Obecność komórek fagocytarnych wokół nowotworów, jaw wynika z obserwacji Berga (1), a także komórek plazmatycznych, nie tylko polepsza rokowanie, ale ponadto utrudnia powstanie przerzutów nowotworowych, tworząc coś w rodzaju płaszcza obronnego. Taki korzystny wzrost komórek żernych w guzach nowotworowych sutka u ludzi następuje po ich napromieniowaniu (13). Krajewskij i wsp. (13) stwierdzali wówczas zwiększoną ilość komórek limfoidalnych, plazmatycznych, makrofagów i komórek olbrzymich dla ciał obcych. Podobnie Vorbrodt i wsp. (27, 28, 29) obserwowali w przypadkach raka skóry u ludzi leczonych promieniami X występowanie w podścielisku guza nowotworowego w trakcie leczenia wyraźne zaznaczony odczyn fagocytarny w postaci zwiększonej liczby makrofagów oraz ich wnikiwania do ognisk rakowych.

Pochłanianie i trawienie resztek rozpadłych komórek przez makrofagi określane jest mianem heterofagii. W procesie tym decydującą rolę odgrywają lizosomy (2, 8, 15, 21, 24). Makrofagi zatem nie tylko uprzętają uszkodzone komórki, ale także odgrywają w leczeniu promieniami radioaktywnymi rolę współdziałającą w niszczeniu guza (27, 28, 29).

Podobnie jak fosfataza kwaśna, tak i fosfataza zasadowa wykazywała wzrost aktywności w komórkach fagocytarnych otaczających oba typy badanych nabłonkowców. Jak wynika

między innymi z obserwacji Miętkiewskiego i wsp. (16) oraz Vorbrodta (25, 26) wzrost aktywności tego enzymu w komórkach żernych również świadczy o ich wzmożonej fagocytarności.

Piśmiennictwo

1. Berg J. W.: Cancer, Philad. 12, 714, 1959.
2. Brandes D., Anton E., Barnard S.: Lab. Invest. 20, 465, 1969.
3. Cohn Z. A., Hirsch J. G.: J. exp. Med. 12, 983, 1960.
4. Cohn Z. A., Weiner E.: J. exp. Med. 118, 991, 1963.
5. Gierek T., Lisiewicz L., Astaldi G., Pilch J.: Wiad. lek. 31, 457, 1978.
6. Gomori G.: Microscopic histochemistry. Univ. of Chicago Press, 1953.
7. Hansen N. E., Andersen V.: Br. J. Haemat. 24, 623, 1973.
8. Hirschhorn K., Hirschhorn R.: Lancet 1, 1046, 1965.
9. Hłiniak A., Krzyżowska-Gruca St.: Nowotwory 29, 39, 1979.
10. Jolles P.: Proc. R. Soc. Ser. B 167, 350, 1967.
11. Kostulak A., Kozłowska K., Zurawska-Czupa B.: XVII Symp. Histochem. Wrocław 1979, s. 18.
12. Kotz J., Basmađi K., Madej J. A.: Medycyna Wet. 34, 89, 1978.
13. Krajewskij N. A., Smoljannikova A. V.: Rukovodstvo po patologoanatomičeskoj diagnostike opucholej čeloveka. Izdat. Medicina, 1971.
14. Kuratowska Z.: Komórki krwi — obrońcy czy wrogowie? BWP, 1974.
15. Mayberry H. E.: Anat. Rec. 149, 99, 1964.
16. Miętkiewski K., Karoń H., Warchol J. B., Król C.: Pat. pol. 1, 145, 1973.
17. Myrvik Q. N., Leake S., Fariss B.: Immun. 86, 133, 1953.
18. Novikoff A. B., Essner E.: J. Cell Biol. 11, 83, 1953.
19. Osserman E. F., Klückars M., Halper J., Fischel R. E.: Nature. Lond. 243, 331, 1973.
20. Pavillard E. R.: Aust. J. exp. Biol. med. Sci. 41, 265, 1963.
21. Slater T. F., Greenbaum A. J., Wang D. Y.: Ciba Found. Symp. Lysosomes 1963, s. 311.
22. Wiernik P. H., Serpick A. A.: Am. J. Med. 46, 331, 1969.
23. Woods A. E., Papadimitriou J. M.: J. Path. 123, 165, 1977.
24. Verley I. M., Holmann K. H.: Z. Zellforsch. mikrosk. Anat. 82, 212, 1967.
25. Vorbrodt A.: Folia Morph. 5, 71, 1954.
26. Vorbrodt A.: Post. hig. 13, 200, 1959.
27. Vorbrodt A., Hłiniak A., Niepotomska W.: Rad. Biol. Ther. 12, 15, 1971.
28. Vorbrodt A., Hłiniak A., Niepotomska W.: Rad. Biol. Ther. 12, 547, 1971.
29. Vorbrodt A., Hłiniak A., Krzyżowska-Gruca St., Gruca St.: Acta Histochem. 43, 270, 1972.

Adres autora: prof. dr hab. Czesław Kaszubkiewicz, ul. Hubska 79/4, 50-501 Wrocław.

Кашубкевич Ч., Мадей Я. А., Ратайчак К. — Исследование фагоцитарной реакции основы в спонтанных эпителиомах молочной железы сук.

Гистоэнзиматическим исследованием определяли активность кислой фосфатазы (ЕС 3. 1. 3. 2.) и щелочной фосфатазы (ЕС 3. 1. 3. 1.) в фагоцитарных клетках основы вокруг спонтанных аденокарцином и тубулярных аденом молочной железы сук. Констатировали рост активности кислой фосфатазы в лизосомах фагоцитарных клеток, как в злокачественных так и в доброкачественных эпителиомах, что свидетельствует об активной защите организма, тем более отчетливой чем более злокачественна опухоль. Сопутствующий рост активности лизоцима свидетельствует об интенсификации спонтанной иммунологической устойчивости. Наблюдался также рост активности щелочной фосфатазы в фагоцитарных клетках, свидетельствующий об усиленной их фагоцитарности.

Kaszubkiewicz C., Madej J. A., Ratajczak K. — Phagocytosis of the stroma in autonomous apitheliomas of the milk gland in bitches.

The activity of fast phosphatase (EC 3.1.3.2) and alkaline phosphatase (EC 3.1.3.1) in phagocytic cells of the stroma was determined histoenzymatically round autonomous adenocarcinomas and adenomas of milk glands. An increase of the activity of fast phosphatase in lysosomes of phagocytic cells in benign and malignant epitheliomas, and lysozyme activity was found out. These facts and besides a higher activity of alkaline phosphatase testify about unspecific immunity of neoplastic cells.