

## STUDIUL HISTOCHEMIC AL FOSFATAZEI ALCALINE ȘI ACIDE DIN ORGANELE IEPURILOR SUPUȘI UNUI TRATAMENT INDELUNGAT CU ACID SILICIC\*)

*Gündisch M., Feszt T., Szabó I., Dezsi Z.*

Silicoza produsă de inspirarea unui aer viciat conținând siliciu nu este o îmbolnăvire doar a aparatului respirator. Mulți cercetători (Daniello, Lupu și Velican 1, 8, 9), au dovedit că bioxidul de siliciu se dizolvă în țesuturi și prin efectul său toxic produce numeroase modificări funcționale și histopatologice, afectând întregul organism. Szabó și colaboratorii săi (12, 13, 14, 15) au efectuat numeroase cercetări experimentale în vederea elu-

\*) Comunicare ținută la ședință din 15 februarie 1956 a filialei Societății Științelor Medicale din Tg.-Mureș, secția de morfologie.

cidării patomecanismului silicozei. Au urmărit efectul acidului silicic asupra metabolismului și a reacțiilor imunobiologice ale organismului. Lucrarea noastră completează cu cercetări de histochimie enzimatică constatările de până acum.

Gorodenscaia a administrat intratraheal doze mici de acid silicic șobanilor, constatând în urma acestui fapt apariția în plămîni animalelor de experiență a unei fibrinoze nodulare, care se aseamănă foarte mult cu modificările silicotice cauzate de inspirarea prafului de siliciu. În urma administrării intravenoase sau intraperitoneale a acidului silicic coloidal mulți au constatat la animalele de experiență leziuni hepatice și renale, proliferarea țesutului conjunctiv, splenomegalie, hemoragii intestinale, modificări vasculare. (2, 3, 4). După Gye, Purdy și Kettle bioxidul de siliciu acționează asupra celulelor ca un toxic al protoplasmei. În urma administrării acidului silicic Pik, Dobrolnikov și Dimitrieva au constatat o diminuare a capacității lipolitice a singelui. Iudeles și Kazanțeva au observat o scădere a activității fermenților proteolitici și a carboanhidrazelor, Szabó și colaboratorii o scădere a colinesterazei și a colinacetilazei. Orlova (10) a remarcat dispariția rezervelor de vitamină C ale organismului. Toate acestea cit și alte modificări biochimice studiate dovedesc ca acidul silicic are un *efect nociv* asupra proceselor enzimatice din țesuturi și că poate avea o influență specifică asupra unor biocatalizatori.

Szabó și colaboratorii au găsit că la iepurii intoxicați cronic cu acid silicic, ca și în cazul silicozelor grave, metabolismul hidraților de carbon suferă tulburări. Conform presupunerilor lor acest lucru s-ar datora tulburărilor de coordonare ale metabolismului glucidelor pe de o parte, și ale proceselor de glicogenază și glicoliză pe de altă parte.

Cunoscînd rolul fosfatazei în metabolismul hidraților de carbon, a grăsimilor și proteinelor, în producerea și dezagregarea glicogenului, în transportul de zahăr, cit și modificarea activității acestor fermenți în cazul îmbolnăvirii unor organe parenchimotoase, ne-am propus să studiem fosfataza evidențiabilă din punct de vedere histochimic, a organelor parenchimotoase la animale de experiență tratate timp mai îndelungat cu acid silicic coloidal. Am întreprins aceasta pentru a găsi răspuns la întrebarea dacă acidul silicic produce tulburări ale metabolismului hidraților de carbon prin presupusa sa acțiune paralizantă exercitată asupra acestor fermenți tisulari.

Cercetările noastre le-am efectuat pe 12 iepurii cenușii de casă (2.200—2.500 gr). În timpul tratamentului de 3 luni și jumătate, acestor animale li s-a administrat intravenos la intervale de 2—3 zile, 2—10 mg. de acid silicic coloidal proaspăt preparat, într-o doză totală de 800 mg de animal. După exsanguinare în organele lor interne (plămîni, ficat, splină, rinichi, intestinul subțire, glande suprarenale) am pus în evidență în urma fixării lor cu alcool rece, respectiv acetonă și incluziune în parafină, fosfataza alcalină după metoda lui Gömöri (cu o incubație de 30 de minute, respectiv 6 ore).

Punerea în evidență a fosfatazei acide am efectuat-o pe baza metodei Gömöri, modificată de Kabat și Furth (cu o incubație de 6, respectiv 24 ore). În vederea unei juste orientări am aplicat și colorația cu hematoxilinozină.

Constatari.

Secțiunile histologice colorate cu hematoxilină-eozină arată că plămîinii animalelor sînt hiperemiați, în stroma hipertrofiată a spațiilor intra-alveolare bogate în celule, activitatea fosfatazei alcaline este crescută iar în unele locuri enzima a apărut și extracelular (fig. 1). În acțiunea fosfatazei acide n-am remarcat modificări.

Spațiile periportale ale ficatului animalelor tratate s-au lărgit, pe alocuri se găsesc infiltrații celulare. În regiunile periferice ale lobulilor se găsesc multe celule hepatice binucleare. Activitatea fosfatazică alcalină a devenit mai intensă, atît în citoplasma cît și în nucleul celulelor hepatice. În unele locuri se observă că la marginile spațiilor lui Kiernan nu numai că apare un cordon cu o activitate mai intensă, pe al cărui teritoriu a crescut activitatea fosfatazică alcalină, ci enzima poate fi regăsită și extracelular (fig. 2). În aceste locuri este foarte activ și epiteliul hipertrofiat al căilor biliare. Activitatea fosfatazică acidă a parenchimului hepatic nu se abate întotdeauna de la normal, în majoritatea cazurilor este însă scăzută, mai ales în citoplasma celulelor hepatice.

Activitatea fosfatazică alcalină din foliculii Malpighi ai splinei este puțin crescută și teritoriul foliculilor este micșorat. (fig. 3—4). În foliculii și în pulpa roșie activitatea fosfatazică acidă este puțin scăzută.

În raport cu lotul de control, în rinichi, intestinul subțire și în glandele suprarenale nu am observat modificări mai însemnate în activitatea fosfatazică alcalină și acidă. În tubii contorți ai rinichilor activitatea fosfatazică acidă este scăzută într-o măsură oarecare.

#### Discuții :

Modificările mici ale activității enzimatice din paranchimul hepatic și renal nu sînt suficiente pentru explicarea tulburărilor instalate în metabolismul hidraților de carbon la animalele cărora li s-a administrat acid silicic.

Absorbția selectivă a zahărului care după cum se știe se desfășoară pe baza unor procese de fosforilare, este normală și la animalele intoxicate cu acid silicic. (Szabó și colaboratorii). Trebuie să presupunem deci că tulburarea metabolismului hidraților de carbon în intoxicațiile cu acid silicic se datorește probabil modificării altor procese enzimatice.

Cercetările noastre întăresc constatările altor autori conform cărora acidul silicic are un efect proliferativ asupra țesutului conjunctiv. La examinarea repetată a unor porțiuni de țesut hepatic uman obținut prin biopuncturi de la bolnavi hepatici am găsit că activitatea fosfatazică alcalină apărută extracelular între trabeculele celulare ale lobulilor hepatici este semnul precoce al proliferării țesutului conjunctiv.

Intensificarea activității fosfatazice alcaline și apariția enzimei în afara celulelor în ficatul, splina și pereții intraalveolari ai plămînilor animalelor tratate timp mai îndelungat cu acid silicic semnaleză deci fibroza generală ce se produce în urma administrării bioxidului de siliciu. Faptul, că aceste semne apar într-o mică măsură la animalele tratate doar de puțină vreme (trei luni și jumătate), dovedește că acest efect al acidului silicic se instalează încet.

Activitatea enzimatică a rinichiului și a intestinului subțire nu s-a modificat, în schimb cea a țesutului pulmonar și a splinei mai puțin sensibile a suferit modificări. Acest fenomen ne permite ca să tragem concluzii cu privire la afinitatea bioxidului de siliciu față de anumite organe, respectiv țesuturi, în special față de elementele sistemului reticulo-endotelial.

Toate acestea explică faptul că acidul silicic tulbură în primul rând activitatea imunobiologică a elementelor S.R.E. fagocitoză și producerea de anticorpi. Intensificarea activității fosfatazice alcaline din ficat, splină și plămâni poate fi concepută ca semnul unei degenerescențe celulare.

Activitatea fosfatazică acidă din organele examinate fie că a rămas neschimbată, fie că a scăzut puțin. Coroborând acestea cu intensificarea activității fosfatazice alcaline ajungem la concluzia că bioxidul de siliciu nu intensifică în nici un caz activitatea celulelor organelor studiate, a celulelor hepatice, a necrocitelor și a celulelor aparținând elementelor S.R.E. (plămâni, splină), ci dimpotrivă o scade, probabil datorită efectului său toxic exercitat asupra celulelor.

Instalarea proliferării țesutului conjunctiv în urma distrofiei celulelor parenchimotoase, poate fi considerată ca un fenomen secundar.

Evoluția lentă a ambelor procese apare în mod caracteristic și în modificările observate de noi, ca și în evoluția silicozei la om.

### Rezumat

Am tratat timp îndelungat (3½ luni) iepuri cu injecții intravenoase de acid silicic coloidal și am examinat histochimic fosfataza alcalină și acidă în organele lor (ficat, rinichi, splină, plămîn, intestin subțire și suparenală).

1. În celulele alveolelor pulmonare și în peretele îngroșat interalveolar activitatea fosfatazei alcaline a crescut iar enzima a apărut și extracelular.

2. În regiunile periferice ale lobulilor hepatici, în spațiile lui Kiernan, precum și în foliculii lui Malpighi ai splinei activitatea fosfatazică alcalină de asemenea a devenit mai intensă.

3. Împrejurul spațiilor lui Kiernan uneori se putea vedea o dungă în formă de cerc ca semn al activității fosfatazice alcaline extracelulare.

4. Activitatea fosfatazei acide în citoplasma celulelor hepatice și în splină din contra a fost scăzută față de lotul de control.

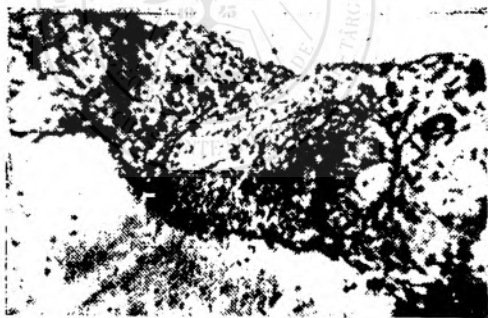
5. Modificările nu prea mari, constatate în activitatea fosfatazică alcalină și acidă nu explică îndesulător tulburările în metabolismul hidraților de carbon care se pot constata la intoxicații cu acid silicic.

6. Creșterea activității fosfatazice alcaline în celulele hepatice și în splină se pot considera ca semnul degenerării celulare în urma efectului toxic al SiO<sub>2</sub>. Apariția extracelulară a fosfatazei alcaline în regiunile periportale hepatice și în stroma pereților interalveolari pulmonari poate fi pusă în legătură cu procesul de proliferație a țesutului conjunctiv.

*Primită la redacție în ziua de 22. 11. 1956.*



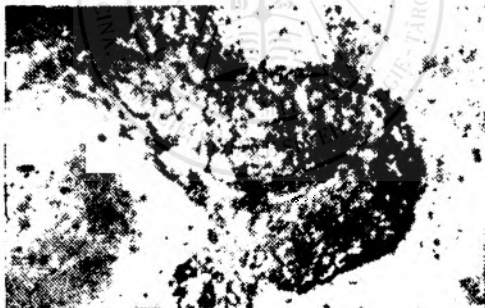
*Fig. 1. Plămînil unui iepure supus tratamentului cu acid silicic. Obi. 40 x, Oc. 10 x. În spațiile intraalveolare, fosfataza alcalină crescută, se poate găsi și extracelular.*



*Fig. 3. Splina unui animal de control. Obi 10 x, Oc. 10 x. Unele celule ale pulpei albe indică o activitate ponderată a fosfatazei alcaline*



*Fig. 2 Detaliu de ficat din jurul spațiului Kiernan. Ori 40 x, Oc. 10 x. Activitatea fosfa'azei alcaline a crescut în citoplasma celulelor hepatice, apărind și extracelular pe marginea lobulilor.*



*Fig. 4. Același animal supus tratamentului. În foliculii Malpighi ai splinei, activitatea enzimei s-a intensificat iar foliculii sint puțin închirciți.*

Dr. GRÉPÁLY A. ȘI COLAB.: DISPARIȚIA HEMOCONIILOR LA BOLNAVII  
DE TUBERCULOZĂ

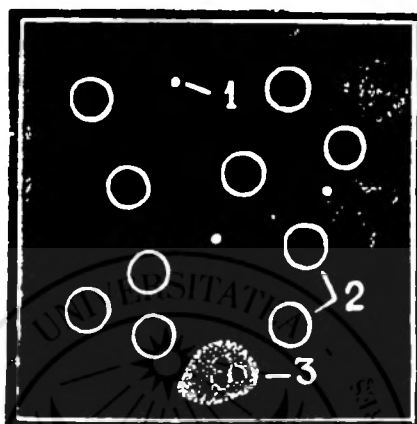


Fig. 1.

Singe diluat cu 2 părți de ser fiziologic. Examen microscopic pe fond întunecat. După un regim fără grăsimi abia se văd câteva hemoconii (1) printre globulele roșii (2). Lingă marginea inferioară a figurii se vede o globulă albă (3) cu granulații strălucitoare în citoplasmă

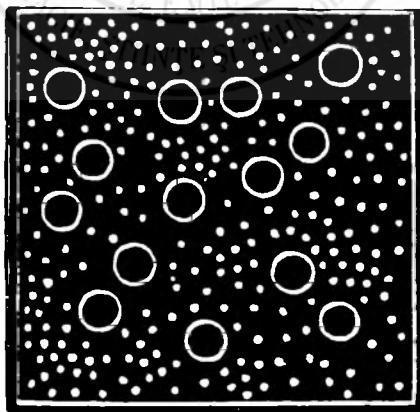


Fig. 2.

La 3 ore după ingerarea alor 30 gr. de unt se văd foarte multe hemoconii printre globulele roșii.

## Bibliografie

1. Daniello L.: Silicoza și silicotuberculoza, E. S. București, 1953; 2. Gorodenscaia E. N.: Silicoza, Moscova, Medghiz, 1951; 3. Gye W. E., Purdy W. J.: Amer. J. Exp. Pathol. 3. 75, 1922; Br't. J. Exp. Path. 3, 86, 1922; 4. Haythorn S. R., Taylor E. A.: J. Med. Res. 1945, 123; 5. Judeles A. L., Kazanțeva T. A.: 1948, citea.ă Lupu-Velican 1953; 6. Kemény Gy., Huszár I., Feszt T.: Studii și Cerc. Inframicrobiologie 5, 89, 1954; 7. Kemény Gy., Feszt T., Gündisch M., Almási Zs., Kasza L.: Sesiunea științifică a I.M.F. Tg.-Mureș, 1955; 8. Lupu N. G., Velican C.: Rolul sistemului nervos în patogenia pneumoconiozelor, Ed. Acad. R.P.R., 1953; 9. Lupu N. G., Velican C.: Pneumocniozele neprofesionale, Edit. Acad. R.P.R. 1955; 10. Orlova A. A.: Silicoza, Moscova 1951; 11. Puk C. D.: Silicoza și profilaxia ei în industria miniera, Moscova, Medghiz, 1949; 12. Szabó I., Szilágyi D., Charap Gy., Gersch V.: Revista Medicală Nr. 3, 23, 1955; 13. Szabó I., Grépály A., Szentkirályi E., Szilágyi D., Metz O.: Rev. de Fiziol. 1956. Nr. 1; 14. Szabó I., Szilágyi D., Gersch V.: Sesiunea științifică a I.M.F. Tg.-Mureș, 1955; 15. Szabó I., Dézsi Z., Gyergyay F., Charap Gy., Vass J., Antalfy A., Ravasz J.: în curs de apariție Bul. St. S. St. Med. Acad. R.P.R:

### ГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЩЕЛОЧНОГО И КИСЛОТНОГО ФОСФАТАЗА В ОРГАНАХ КРОЛИКА ПОСЛЕ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОГО ЛЕЧЕНИЕ КРЕМНЕЗЕМИСТОЙ КИСЛОТОЙ

М. Гюндиш, Т. Фест, И. Сабо, З. Дежи

После хронического лечения кроликов внутривенно  $\text{SiO}_2$ , доказанная гистохимически деятельность щелочного фосфатаза повысилась в междоальвеолярных легочных стенках, в периферийных зонах долей печени и в мальпигиевых тельцах селезенки.

В печени обнаружено также и внеклеточное появление энзима. Эти изменения объясняются как процессы дегенерирования клетчатки и как размножение соединительной ткани (цироз), как последствие отравление кремнеземом.

Кислотное лействие фосфатаза снизилось как в цитоплазме клетчатки печени, так и в селезенке.

### ETUDE HISTOCHEMIQUE DE LA PHOSPHATASE ALCALINE ET ACIDE, DANS LES ORGANES DES LAPINS, APRES UN TRAITEMENT PROLONGE AVEC L'ACIDE SILICIQUE

M. Gündisch, T. Feszt, I. Szabó, Z. Dézsi

Après un traitement intra-veineux avec  $\text{SiO}_2$  chez les lapins, l'activité de la phosphatase alcaline, démontrée par la voie histochemique a augmenté dans les parois interalvéolaires pulmonaires, dans les régions périphériques des lobes hépatiques et dans les corpuscules de Malpighi de la rate. Dans le foie, l'enzyme est apparue aussi extra-cellulairement.

Ces modifications s'expliquent comme des processus de dégénération cellulaire et de prolifération du tissu conjonctif (cyrrhose) à la suite d'intoxication par silicium.

L'activité phosphatasique acide a diminué dans le cytoplasme des cellules hépatiques, ainsi que dans la rate.