

METABOLISMUL FOLIC LA NIVELUL PERETELUI INTESTINULUI SUBȚIRE

Șef lucr. dr. **Ligia Neica, Costin Leonard Bold**

Universitatea „Transilvania” din Brașov, Facultatea de Medicină

Abstract:

Through histochemical and histoenzimological methods it has been studied the activity of dihydrofolate reductase and folic acid in the small intestine wall with all its component tunics but there were differences on the analysis depending on the type of cells and the intestinal segment.

Key-words: dihydrofolate reductase, folic acid, enterocytes, Brunner glands

Introducere

Digestia principalelor substanțe alimentare-proteine, lipide, glucide se realizează în cadrul proceselor chimice hidrolitice, asigurate prin participarea a numeroase enzime digestive. Unele dintre aceste enzime se găsesc în secreția salivară, gastrică și a pancreasului exocrin, în timp ce altele sunt conținute în membrana luminală și citoplasma celulelor epiteliale ale intestinului subțire [1].

Acțiunea enzimelor digestive este favorizată de o serie de activatori cum sunt acidul clorhidric din sucul gastric și bila [3, 7], produs de secreție hepatică.

Sedate chimic până la etapa finală de elemente simple [4, 6], (monozaharide, dizaharide, acizi grași, glicerol și aminoacizi) acestea, împreună cu vitaminele, mineralele și apa, trec apoi prin mucoasa intestinului subțire în cadrul fenomenului de absorbție și sunt transportate în circulația generală sangvină și limfatică spre țesuturi, unde vor fi metabolizate [2]. În acest sens, digestia în intestinul subțire și mai ales în duoden este esențială și indispensabilă proceselor de nutriție [8].

Pentru a cunoaște mai profund evenimentele metabolice intestinale, lucrarea de față își propune să studieze histoenzimologic activitatea unor procese oxidative în duoden și ileon.

Material și metodă

S-a lucrat pe fragmente de intestin subțire, recoltate din diferite segmente ale acestuia. Fragmentele intestinale au fost recoltate de la Serviciul de Anatomie Patologică al Spitalului Clinic Județean de Urgență Brașov, în timpul necropsiilor. Fragmentele de intestin au fost fixate în azot lichid și apoi secționare la criotom, la temperatura de -25°C, obținându-se cupe fine de 5-6 milimetri. Pe aceste cupe s-au

efectuat reacții histoenzimologice și histochimice pentru:

A. Acidul folic (etape)

- oxidarea secțiunilor timp de 5 minute cu H₂O₂ sau soluție de KMnO₄ 1%
- iradiere cu ultraviolete timp de 60 de minute a secțiunilor plasate în tampon fosfat pH 7,2 – 7,4
- spălare rapidă de 2-3 ori cu apă distilată
- trecerea secțiunilor pentru 15-20 de minute în soluție HCl₅N + HNO₂, la temperatura de 40°C
- spălare rapidă de 2-3 ori în apă distilată
- iradierea timp de 45 de minute cu ultraviolete a secțiunilor plasate în soluție de 1% H₂CO₃
- spălare rapidă de 2-3 ori în apă distilată
- trecerea secțiunilor timp de 10 minute în 2-naftol sau Fast Blue BB
- montarea în glicerină sau sirop Apathy

Reacția apare sub forma de *granule de culoare brună*, localizate în citosol și/sau nucleu

B. Dihydrofolatreductaza

Incubarea secțiunilor timp de 20 de minute în mediu care conține: 7mg/ml folat de sodiu 0,004 M; 1mg NAD 0,005 M; NADP 0,0004 M; 1 mg nitro B T 0,0004 M; 1 ml tampon fosfat de sodiu 0,2 M la pH 7,4. Se execută apoi spălarea în 1 ml de tampon fosfat de sodiu 0,2 M la pH 7,4; montarea în glicerină sau sirop Apathy.

Reacția enzimatică apare sub formă de *granule fine, violet-inchis*, localizate în citosol.

Rezultate

Epiteliul intestinal prezintă reacții pozitive pentru acidul folic la nivelul enterocitelor și o activitate mai redusă pentru enzima folică, pentru ca apoi să devină medie

în celulele de pe marginea vilozităților intestinale și slabă sau negativă în cele localizate în vârful vilozităților (Fig. 1).

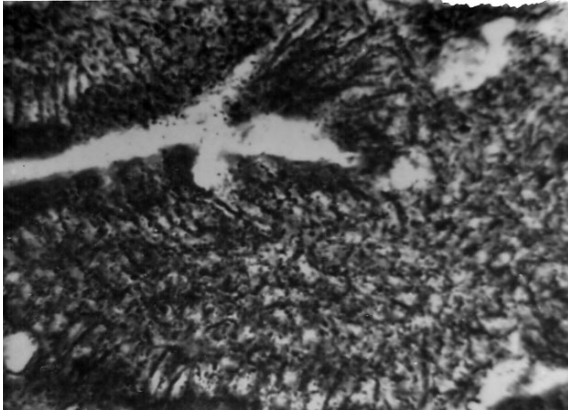


Fig. 1 Vilozități intestinale. Acidul folic este intens pozitiv în enterocite și mediu pozitiv în celulele axului conjunctiv

Axul conjunctiv al vilozităților intestinale prezintă reacții medii la nivelul celulelor conjunctive, endoteliilor vasculare și ale chiliferului central precum și în mușchiul neted de la baza vilozităților.

La nivelul *criptelor Lieberkuhn*, enterocitele se evidențiază printr-o reacție intensă atât pentru acidul folic cât și pentru enzima lui de metabolizare. Celulele caliciforme sunt întotdeauna areactive. Celulele Paneth din glandele Lieberkuhn apar cu reacții intense pentru acidul folic, intense și foarte intense pentru dihidrofolatreductază.

Musculara mucoasei este prezentă cu reacții medii pentru acidul folic, localizate în apropierea nucleului fibrelor musculare netede sub forma de granule fine, pulverulente.

Submucoasa

Activitatea dihidrofolatreductazei este pozitivă în toate structurile acestei tunici intestinale: fibroblaste, mastocite, plasmocite, celulele sanguine migrate (limfocite, macrofage), vase sanguine, fibre nervoase mielinice (Fig. 2).

Submucoasa se caracterizează prin reacții în general intense și pentru acidul folic.

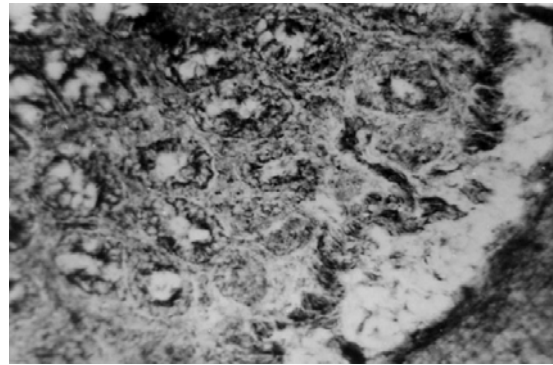


Fig. 2 Dihidrofolatreductaza. Duoden. În țesutul conjunctiv al submucoasei apar reacții de grade diferite în fibroblaste. Vasele sanguine sunt foarte intens reactive. Glandele Brunner sunt intens reactive.

La nivelul duodenului, componentele glandelor Brunner prezintă reacții de intensitate diferită (slabe, medii, intensă), atât pentru enzima folică, cât și pentru substratul ei. Aceste diferențe de reacție se observă între celulele aceleiași acin secretor precum și de la o glandă la alta (Fig. 3).

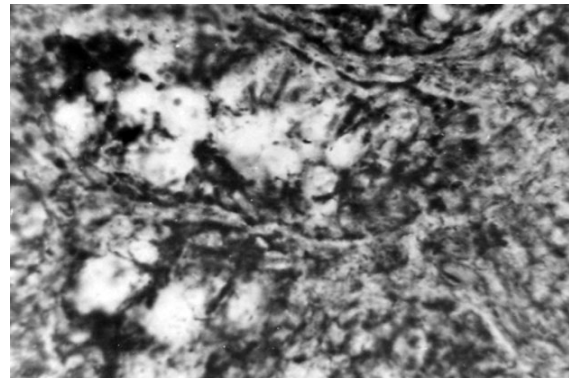


Fig. 3 Duoden. Acidul folic. Glandele Brunner prezintă reacții de grade diferite în celulele secretorii

Musculara.

Fibrele musculare netede din cele doua tunici prezintă în general reacții de intensitate medie pentru metabolismul acidului folic.

Între stratul muscular intern și cel extern apar mici microganglioni nervoși ai plexului Auerbach, care prezintă în neuropeptidul pericarionului reacții slabe, medii sau intense. În felul acesta, microganglionii apar mozaicați. În interstițiile conjunctive apar vase cu reacții endoteliale medii.

Seroasa

Apare cu activitate intensă în celulele conjunctive de tip fibroblastic și foarte intensă în mastocite și plasmocite.

Reacții medii apar în tunicile vasculare și ușor inegale (unele slab reactive, altele mediu sau intens reactive), în fibrele nervoase din pachetele de nervi mielinici.

Discuții și concluzii

Metabolismul folicilor la nivel *epitelial* se desfășoară la nivele mai scăzute.

Acidul folic și dihidrofolatreductaza, enzima sa principală de metabolizare, sunt prezente în *enterocite* la un nivel reactiv de intensitate medie în general, granulele reactive fiind localizate predominant în citosolul bazal subnuclear.

Metabolism folic intens apare însă în compartimentul proliferativ din *criptele intestinale*, zona în care sunt foarte active în primul rând celulele stem dar și celulele excretorii exo- și endocrine.

Prezența unui metabolism folic ridicat în acest nivel ține de cerința crescută de acid folic în aceste celule, deoarece acest component al grupului vitaminelor B este implicat direct în sinteza acizilor nucleici, deci în celulele stem aflate în diviziuni repetate.

Totodată, acidul folic este implicat în sinteza unor aminoacizi ca metionina, glicina, serina, în celulele secretorii ale glandelor Lieberkuhn sau în celulele secretorii endocrine, în care va intra în componența lanțurilor proteice sintetizate la acest nivel [5].

Aceste lanțuri proteice vor constitui produsul de secreție și excreție al unor fermenți necesari digestiei intraluminale intestinale și, de asemenea, vor constitui hormoni eliberați din sânge, dintre care unii identificați de curând și în neuronii centrali, socotiți pentru aceasta a fi neuropeptide biologice active. Astfel ar fi colecistochinina, gastrina VIP (vasointestinal polipeptide) și alții.

Domeniul neuropeptidelor, cu loc de sinteză dublu - intestinal și nervos - constituie un domeniu interesant, atât pentru identificarea hormonilor în ambele organe, cât și pentru implicațiile lor în funcția intestinului, în sistemul nervos central și periferic dar, mai ales, pentru implicațiile lor patologice.

Multe dintre neuropeptidele neuronice active neurointestinale sunt privite ca responsabile pentru instalarea unor patologii legate de insulino-rezistență, obezitate și altele.

De exemplu, în obezitate se incriminează insuficiența secreției de colecistochinină, cunoscut ca hormon al sațietății. De aici s-a avansat ideea utilizării acestui hormon în tratamentul obezității.

Axul conjunctivo-vascular al vilozității intestinale participă la activitatea locală a mucoasei prin existența în toate tipurile de celule conjunctive și endoteliale vasculare a unei activități metabolice ridicate pentru acidul folic și pentru enzima sa de metabolizare.

Gradele diferite metabolice ale diferitelor tipuri celulare atrag atenția asupra funcționalității lor pe perioade alternative de repaus sau de activitate susținută.

Submucoasa duodenului este sediul desfășurării unei activități înalte pentru acidul folic și dihidrofolatreductaza în toate structurile existente conjunctive, vasculare, nervoase și glandulare.

Unele celule conjunctive fibroblaste, mastocite sunt deosebit de active metabolic în turnoverul acidului folic.

Metabolismul folic apare mai intens în celulele angajate în activitatea mitotică (fibroblaste) sau secretoare (plasmocit, acini glandulari duodenali).

Prezența unui puternic metabolism al acidului folic în glandele Brunner duodenale atrage atenția asupra intensei activități secretorii de la acest nivel.

Într-adevăr, celulele acinilor secretori apar cu o concentrație ridicată de acid folic. Diferențele reacționale între celule sau între acini stabilesc periodicitatea funcțională a acestor structuri [9].

Musculatura duodenală se caracterizează prin intensități enzimatică în general medii în miocite. Prin contrast, interstițiile conjunctive apar cu activități enzimatică intense și foarte intense, în celule, vase, nervi.

Deosebit de interesant se detașează metabolismul microganglionilor nervoși din submucoasă și musculatură, la nivelul cărora metabolismul folic se desfășoară într-un tablou de heterogenitate pericarională. Sunt astfel neuroni foarte activi, alături de alții cu reacții slabe sau medii, trădând și în plexurile

nervoase Meissner și Auerbach o funcție de alternanță repaus-activitate.

Seroasa duodenului – în desfășurarea metabolismului cercetat se aseamăna cu cele observate la nivelul submucoasei, explicabil de altfel, prin similaritatea structurilor componente de țesut conjunctivo-vasculo-nervos.

În concluzie se pot reține următoarele aspecte:

- metabolismul folic este prezent în toate structurile intestinale, cu grade diferite de intensitate, de la un tip celular la altul, de la o tunică la alta sau de la un segment intestinal la altul.
- cel mai activ enzimatic apare compartimentul proliferativ intestinal, localizat în criptele de la baza vilozităților intestinale.
- cele mai heterogene structuri din punct de vedere al enzimelor cercetate sunt glandele Brunner din duoden și microganglionii nervoși Meissner și Auerbach.

Bibliografie

1. Altman C.C., Enescu M. - Cell number as a measure of distribution and seneval of ephitelial cells in the small intestine of growind and adult rats, *Am. J. Anat.*, 1987, 121, 319-336.
2. Borgstrom B., Tryding N., Westoo C. - Of the extens of hydrolisys of triglyceride ester honds in the human small intestine, during digestion., *Acta Physiol. Scand*, 1987, 40, 241-247.
3. Gray C.M. - Carbohydrate digestio and absorbtion, *New Engl. J. Med*, 1995, 5, 1225-1230.
4. Hendrik T.R. - The absorbative function of the alimentary cana., In: *Medical Physiol*, 1145. Ed. Mount-Castle, 1999, 154-203.
5. Junqueira L.C., Carneiro J. - *Histologie – Tratat și atlas*, Ed. Medicală Callisto, 2008, 298-315.
6. Pearse A.G. - *Histochemistry*, Ed. Churchill, Londra, 1972, 56-69.
7. Verzar F.- *Absorbtion from the intestine*, Haffner Publishing Comp, New York, 1987, 88-103.
8. Wachstein M., Meisel E. - *Histochemistry of hepatic phosphatase at a physiologic pH with special references to the demonstration of bile canaliculi*, 1997, 13-23.
9. Werster H.L., Harrison D.D. - *Enzymatic activities during the transformation of cript to columnar intestinal cells*, 1989, 245-253.