

ACȚIUNEA SELENIULUI ȘI A VITAMINEI E ASUPRA REGENERĂRII FICATULUI DE ȘOBOLAN *

T. Maros, B. Katonai, Gh. Fodor, Virginia V. Kovács

Cercetările experimentale din ultimii 15 ani au scos în evidență importanța seleniului (Se) ca element fundamental de nutriție care intră în componența așa zisului „factor-3”, despre care se discută tot mai mult în literatura contemporană. În lipsa acestui principiu apar sindroame carentiale, ca de pildă degenerescența mușchilor scheletali și a miocardului, distrofia pancreasului, diateza exsudativă; semnele mai constante și mai evidente se manifestă însă sub forma necrozelor hepatice. Acestea din urmă sînt atît de semnificative, încît prevenirea necrozei hepatice prin adăugarea de Se la un regim dietetic hepatonecrogen, constituie un test important de etalonare a biopotențialului factorului-3 (Schwarz).

Sub raportul dozării și al valorificării de către organism, se pare că dintre cele 200 de combinații studiate pînă în prezent, cele mai eficiente sînt seleniții. Doza minimă hepatoprotectoare (ED₅₀) a acestor combinații este de 2—3 micrograme % Se (Schwarz).

Cîtă vreme acțiunea hepatotropă a Se-lui (ca element de sine stătător sau ca exponent al factorului-3) a fost studiată în ultimii ani și sub raportul protecției pe care o oferă în cazul necrozelor hepatice consecutive alimentării unilaterale cu praf de lapte (Fink), efectele hepatostimulatoare ale principiului de mai sus nu au format încă un obiect de cercetare.

Acest fapt ne-a îndemnat să studiem influența Se-lui asupra regenerării ficatului după o hepatectomie subtotală, test verificat de numeroși autori și de noi în cursul unor cercetări experimentale anterioare.

Material și tehnică

Cercetările au fost făcute pe 100 de șobolani albi, sănătoși, de ambele sexe, cîntărind în medie 130 g. Acestia au fost împărțiți pe 3 serii, ținute în aceleași

* Comunicare făcută la secția de morfologie a U.S.S.M. Tg.-Mureș, 21. V. 1964.

condiții care se deosebeau numai prin compoziția hranei administrate.

Seria „martorilor” („M”) totalizează 50 de șobolani ținuți la un regim alimentar sintetic, compus din: cazeină (18%), amidon (63%), drojdie de bere (8%), untdelemn (5%), amestec de săruri (4%), agar-agar (2%) în apă bidistilată, administrându-se zilnic pe cap de animal 25—30 g.

Seria „Se” (25 șobolani) a primit aceeași cantitate de hrană sintetică, adăugându-se în plus la rația zilnică 3 micrograme $\%$ selenit de sodiu dizolvat în apă bidistilată.

Seria „Se + E” (25 șobolani) a fost alimentată ca și seria „M”, cu deosebirea că la doza zilnică de hrană sintetică s-a adăugat 1 microgram selenit de sodiu (100 g/corp în apă bidistilată) și vitamină E în proporție de 50 miligrame (1000 g hrană sintetică). Hrana a fost zilnic proaspăt pregătită înainte de alimentarea animalelor.

La toți șobolanii s-a executat o hepatectomie subtotală în narcoză cu eter, în condiții rigurose sterile. Am extirpat lobul mijlociu și stîng, adică 63,5% din întregul ficat. În prima zi după operație animalele au fost ținute la o temperatură de cameră de 27° C.

Regimul alimentar s-a instituit cu 3 zile înainte de hepatectomie și a fost continuat pînă în ziua sacrificării. Pe parcurs nu s-au înregistrat pierderi spontane. Șobolanii au fost sacrificați prin decapitare în ziua a 3-a, a 7-a, a 11-a, a 14-a și a 21-a (cite 10 din seria „M” și cite 5 din seriile „Se” și „Se+E”).

Ciștigul ponderal al ficatului rezidual s-a calculat pe baza formulei lui Canzanelli, luîndu-se în considerație indicațiile cuprinse în lucrarea lui *Dagradi* și colab.

Fragmentele de ficat pentru examenul microscopic au fost recoltate totdeauna la egală distanță de bontul de rezeecție. După fixarea în formalină neutralizată (1:4), materialul a fost inclus în parafină, în parte secționat la gheață. Cupele de 7 microni au fost colorate cu hematoxilină-eozină și Sudan III.

Frecvența mitozelor și a hepatocitelor cu 2 nucleii am exprimat-o procentual, raportînd-o la 2500 de celule hepatice. Din fiecare grupă sacrificată la intervalele arătate s-au luat în considerație cite 2 animale.

Rezultate

Aspectul macroscopic al regeneratului hepatic. La martori („M”) remarcăm o culoare cafenie-gălbuie, caracteristică ficatului rezecat (în prima etapă a regenerării), care după ziua a 7-a revine treptat la culoarea cafenie-închisă a ficatului normal. Ficatul animalelor din seria „Se” are o culoare roșie-închisă, relieful lobular șters, ce se menține pe toată durata de observație. La cele din seria „Se+E” regeneratul este de culoare brună cu o nuanță gălbuie abia perceptibilă, limitele lobulilor schițîndu-se mai ferm decît la seria precedentă.

Tabelul nr. 1 totalizează datele referitoare la sporul ponderal al regeneratului hepatic pe baza calculului statistic.

Aspectul microscopic al ficatului

La seria „M”. În ziua a 3-a după hepatectomie observăm semnele unei hiperemii sinusoide moderate, numeroase hepatocite clare (de aspect vegetal), nuclei celulari uniformi, prezentînd mici diferențe tinctoriale, și sporadic cite un infiltrat histiocitar; multe picături sudanofile mari în citoplasma celulelor din zonele centrale și intermediare și picături mici în cele periferice ale lobulilor hepatici.

Începînd din ziua a 7-a hiperemia moderată se menține pe toată durata perioadei de observație, steatoza scade treptat și dispăre în ziua a 14-a. În rest structura ficatului corespunde stării normale.

La seria „Se”. În ziua a 3-a după hepatectomie se constată o hiperemie pronunțată pe toată întinderea parenchimului hepatic; pretutindeni observăm nume-

Tabelul nr. 1.

Ziua sa- crificării	Mortori			Seleniu			Seleniu + Vit. „E”					
	Nr. ani- mărilor	$\bar{X} \pm S \bar{X}$	t	P	Nr. ani- mărilor	$\bar{X} \pm S \bar{X}$	t	P	Nr. ani- mărilor	$\bar{X} \pm S \bar{X}$	t	P
3.	10	70±3,70	—	—	5	79±4,34	2,374	0,05	5	76±8,11	0,715	0,50
7.	10	80±3,18	—	—	5	89±5,55	0,737	0,50	5	127±9,98	3,022	0,02
11.	10	70±4,65	—	—	5	93±3,84	3,744	0,01	5	133±8,01	6,689	0,001
14.	10	89±4,84	—	—	5	111±9,07	1,996	0,10	5	124±5,01	4,878	0,01
21.	10	101±2,25	—	—	5	105±4,37	0,841	0,50	5	109±6,68	1,274	0,40

$\bar{X} \pm S \bar{X}$ = media și deviația standard
 t = distribuția lui Student
 P = probabilitatea

Tabelul nr. 2.

Ziua sa- crificării	Mortori			Seleniu			Seleniu + Vit. „E”		
	M.	Bi.	Steatoză	M.	Bi.	Steatoză	M.	Bi.	Steatoză
3.	4,41	9,90	+++	5,00	9,50	+++	10,80	15,95	+++
7.	1,60	9,50	+++	2,45	7,55	+++	11,85	22,25	—
11.	0,85	5,30	+	2,65	5,20	—	2,50	11,10	—
14.	0,40	5,55	—	1,05	5,35	—	0,30	10,45	—
21.	—	5,40	—	—	4,05	—	—	5,60	—

% raportat la 2X2500 celule hepatice

roase microhemoragii interstițiale, datorită cărora ficatul are un aspect pestriț, cit și picături mari sudanofile, repartizate proporțional în cele 3 zone ale lobulilor hepatici. În rest nimic demn de menționat.

Din ziua a 7-a pe întreaga perioadă de observație remarcăm semnele unei hiperemii sinusoidale evidente, microhemoragii intraparenchimatoase (uneori sporadice și circumscrie, mai frecvent dispersate pe tot cuprinsul preparatelor). Steatoza dispare în ziua a 11-a.

La seria „Se + E”. În ziua a 3-a se observă o hiperemie moderată în sinusoidalele ficatului, hepatocite mult hipertrofiate, diferențe pronunțate în privința tincorialității citoplasmei; frecvent apar forme de mitoză și celule cu doi nuclei, sporadic cite un infiltrat histiocitar, numeroase picături mari sudanofile în citoplasma hepatocitelor (fără topografie definită).

Din ziua a 7-a remarcăm pe toată perioada de observație o hiperemie sinusoidă pronunțată (difuză sau teritorială), celule cu doi nuclei în proporție considerabilă (pe alocuri poliblaști), cite un infiltrat limfo-histiocitar în spațiile portale. Steatoza hepatică dispare în ziua a 7-a.

Valorile procentuale medii ale indicelui de mitoză (M), ale hepatocitelor cu doi nuclei (Bi) precum și gradul steatozei hepatice, sînt cuprinse în tabelul nr. 2.

Discuții

Din cele de mai sus reiese că la șobolanii tratați cu Se (separat), sporul ponderal al regeneratului hepatic în ziua a 11-a este semnificativ crescut față de martori. La cei tratați cu Se și vitamină E am înregistrat valori statistice semnificative în zilele 7, 11 și 14 (foarte semnificative în ziua a 11-a).

Analiza microscopică a preparatelor arată că administrarea separată a Se-lui în doze zilnice de 3 micrograme % (adică în cantități mai mari decît doza de protecție), pe lingă o ușoară activizare a procesului de mitoză, intensifică circulația hepatică, producînd însă și leziuni ale pereților capilari.

Culoarea roșie-închisă și relieful șters al lobulilor care caracterizează regeneratul hepatic al șobolanilor din această serie se explică prin numărul mare de microhemoragii interstițiale, dovadă a creșterii permeabilității barierei hematotismulare la nivelul ficatului.

Dozele mai reduse de Se (1 microgram %) asociate cu vitamina E, provoacă o creștere ponderală a regeneratului hepatic matematic semnificativă în ziua a 7-a, a 11-a și a 14-a, cit și accentuarea pronunțată a diviziunilor celulare mitotice și a celulelor cu doi nuclei (în special în cursul primelor 11 zile), intensificînd circulația hepatică, fără a produce însă leziuni ale pereților vasculari. Lipsa microhemoragiilor interstițiale la seria „Se + E” confirmă acest fapt.

Cît privește acțiunea exercitată de Se asupra diviziunii hepatocitelor, se pare că doza menționată (administrată separat) favorizează într-o măsură oarecare electiv mitozele, în timp ce dozele mai mici (cuplate cu vitamina E) influențează în sens pozitiv toate formele diviziunii celulare. Asemenea efecte electiv s-au înregistrat de noi și cu ocazia studiului acțiunii altor factori hepatostimulatori (4, 5, 6). Efectele hepatostimulatoare ale Se-lui se manifestă și sub forma dispariției mai rapide decît la martori a steatozei hepatice. Într-o lucrare anterioară (7) am arătat că picăturile sudanofile din celulele hepatice reprezintă una din sursele de energie ale procesului de cariochineză din ficat, epuizîndu-se în raport cu gradul de intensitate al acestuia. Faptul concordă cu cele relatate în lucrarea de față.

Concluzii

1. — Selenitul de sodiu intensifică regenerarea ficatului de șobolan după o hepatectomie subtotală.

2. — Selenitul de sodiu favorizează electiv procesul de mitoză. Cuplat cu vitamina E stimulează în mod semnificativ cîștigul ponderal al regeneratului hepatic și toate formele diviziunii celulare la nivelul ficatului.

3. — Se pare că doza fiziologică hepatostimulatoare este în jurul a 1 microgram/100 g corp. Administrat în cantități mai mari — pe lângă stimularea procesului de cariochineză — seleniul mai provoacă și efecte toxice vasculare, ce se manifestă sub formă de microhemoragii intraparenchimatoase.

Sosit la redacție: 18 mai 1964.

Bibliografie

1. DAGRADI A., DE CANDIA G., BELLINI O.: Chirurgia e Patologia sperimentale (1958), VI, 8, 802; 2. FINK H. Naturwissenschaften (1960), 47, 21, 499; 3. MAROS T., SERES-STURM L., CSIKY N., KOVÁCS V. V.: Il Fegato (1961), VII, 1, 39; 4. MAROS T., KATONAI B., KOVÁCS V. V.: Kísérletes Orvostudomány (1962), XIV, 3, 314; 5. MAROS T., RÁCZ L., ARDELEANU GH., KATONAI B., KOVÁCS V. V.: Igiene (1963), XII, 1, 39; 6. MAROS T., KOVÁCS V. V., KATONAI B., RÁCZ L., BÓSY L. I.: Rev. Med. (1963), IX, 3, 295; 7. MAROS T., SERES-STURM L.: Com. la al V-lea simpozion internațional al histologilor, Sofia, 30. IX.— 6. X. 1963; 8. SCHWARZ K.: Fed. Proc. (1961), XX, 2, 665.