

## EFACTUL PRESATULUI DE EMBRION ASUPRA PLĂGILOR ATONE

C. Székely, F. Wiener, Magdalena W. Babonits, A. Bedő

Cercetările întreprinse în problema culturilor de țesuturi au îmbogățit în ultimii 50 de ani cu multe date noi cunoștințele noastre privitoare la condițiile de viață și funcționare a celulelor. S-a stabilit printre altele că condițiile de trai ale celulelor explantate pot fi considerabil îmbunătățite prin adăugarea la mediul lor de cultură a sucului aceluia obținut prin presarea embrionilor tineri. Datorită acestui extract embrionar celulele se pot înmulți practic nelimitat (2, 3, 4, 5, 7, 9).

Studiul amănunțit al extractului embrionar nu a reușit nici pînă astăzi să stabilească exact natura chimică a substanței sau a substanțelor care exercită o influență atât de favorabilă asupra țesuturilor cultivate. Principiile necunoscute, dar a căror existență poate fi dedusă din efectul lor evident, au fost denumite de *Carrel* „trefoane”. Substanțe cu efect similar au fost obținute și din leucocite, din țesuturi în regenerare sau supuse autolizei sterile, precum și din hidroliza peptică de scurtă durată a unor proteine. Experiența câștigată în cultura de țesuturi a arătat că trefoanele extractului embrionar nu prezintă specificitate semnificativă de specie sau de organ. Celulele oricărei specii se dezvoltă deopotrivă de bine în prezența extractului embrionar omolog sau eterolog (4, 7, 9, 11, 22).

Cu peste patru decenii în urmă *Carrel* a emis ipoteza, conform căreia substanțe stimulative de genul trefoanelor iau naștere totdeauna cu ocazia unor intense procese de proliferare celulară. Astfel de ocazii sînt în primul rînd dezvoltarea embrionară, iar la adult vindecarea rănilor. În aceste din urmă cazuri în special trefoanele leucocitare pot avea o importanță biologică deosebit de mare (3, 7).

Dacă în procesele de intensă proliferare celulară se produc asemenea principii stimulative, în cazul plăgilor cu proastă tendință de vindecare, insuficiența sau lipsa unor asemenea produse, pot sta la baza caracterului atonal al leziunii. Vindecarea unei plăgi poate fi considerată într-o anumită măsură drept un fel de cultură de țesut „in vivo”. De aceea se poate presupune că aplicarea locală a extractului embrionar, conținînd principii stimulative și chiar și substanțe necesare procesului constructiv, favorizează vindecarea. Această presupunere ne-a servit drept ipoteză de lucru în experiențele prezentate în cele ce urmează.

### Material și metode

Pe pielea depilată a spatelui șobolanilor albișoși am produs plăgi prin secționare, prin ardere cu metal fierbinte, respectiv prin aplicarea de chimicale caustice concentrate, ca acidul fenic și sulfuric, respectiv hidroxid de sodiu. După o toaletă uzuală leziunile produse au fost pansate cu tifon îmbibat fie cu extract embrionar aceluia fie cu omogenizat integral de embrioni.

Pe baza rezultatelor favorabile ale experiențelor pe animale și pe baza unor date bibliografice similare am încercat și tratamentul unor plăgi umane cu proastă tendință de vindecare. În aceste cazuri omogenizat de embrioni a fost folosit atât în stare proaspătă cît și în stare de pulbere liofilizată, uneori înglobată în alifie.

Preparatele embrionare folosite în experiență au fost obținute din embrioni de găină de 7—9 zile vîrstă. Ouăle au fost dezinfectate înainte de deschidere timp de 25 minute într-o soluție apoasă, conținînd 2% acid boric și 0,05% permanganat

de potasiu, iar apoi embrionii culeși în condiții sterile au fost omogenizați. Prin centrifugarea omogenizatului se separă extractul embrionar ca un supranatant clar. Cantități mai mari de preparat embrionar au fost obținute din 700 ml omogenizat de embrioni și 2200 ml ser fiziologic, la care s-a mai adăugat pentru stabilizare 150 ml dintr-o soluție 8 gama% de clorură de argint. Acest amestec a fost liofilizat și păstrat la temperatură ambiantă în flacoane ermetice închise.

### Rezultate

Extractul embrionar și omogenizatului au avut efect favorabil identic. Aminocouă accelerează vindecarea plăgilor de origine diferită, iar rezultatele cosmetice au fost în toate cazurile mai bune.

Plăgile sectionate ale șobolanilor cu bună tendință de vindecare, s-au cicatrizat în 8—11 zile la animalele tratate și în 9—15 zile la animalele martore.

Arsurile de gradul II și III la animalele tratate s-au vindecat în 12—19 zile, iar la animalele martore vindecarea a avut loc în 19—21 zile.

Deși necrozele produse de acidul fenic nu puteau fi identice ca dimensiune la fiecare animal (fapt care influențează timpul de vindecare), totuși la animalele tratate acest timp era de 12—19 zile față de 19—21 zile ale martorilor.

Pe pielea animalelor badijonate cu acid sulfuric s-au produs ulcere cu proastă tendință de vindecare dar care sub influența tratamentului cu preparate embrionare s-au vindecat în 21—35 zile. La animalele martore, pe lângă o vindecare spontană în 31 zile ulcerul a devenit cronic, însă după 2 luni, aplicând un tratament cu preparate embrionare, s-au vindecat în 19 zile.

Aplicarea hidroxidului de sodiu concentrat a produs necroze de mărimea unei pulpe de deget, acoperite cu o crustă brun-gălbuie. Leziunile animalelor tratate s-au vindecat în 17—20 de zile, iar cele ale martorilor s-au menținut pînă peste 84 zile, fără nici o tendință de vindecare.

Experiența noastră în tratamentul plăgilor umane încă nu este suficientă pentru a putea trage concluzii mai precise. De aceea ne vom limita cu această ocazie numai la unele informații mai generale.

În urma aplicării repetate a omogenizatului embrionar, escarele în general s-au vindecat mai repede. Trebuie să avem însă în vedere că durata de vindecare poate fi mai lungă sau mai scurtă în funcție de dimensiunile leziunii sau de vîrsta și starea generală a pacientului. Din cele 7 cazuri de escare tratate de noi, cea mai mică, de un diametru de 1,5 cm și adîncă de aproximativ 1 cm, s-a vindecat în 9 zile, iar cea mai mare, de 10 cm diametru și 2—3 cm adîncime, în 2 luni.

Rezultatele tratamentului ulcerelor crurale, care persistă de cîteva luni sau chiar de mai mulți ani, sînt influențate probabil, pe lângă factorii menționați mai sus, și de localizarea lor. Pentru aceasta pledeză cel puțin cazurile în care vindecarea unor ulcere de mărimea pulpei policelui s-a prelungit timp de o lună, pe cîtă vreme un ulcer de mărimea palmei unui sugăr a putut fi vindecat într-o săptămînă. Din cele patrusprezece cazuri de ulcere crurale unul singur, de mărimea palmei de bărbat, a rezistat tratamentului. Într-un alt caz, bolnavul găsind tratamentul dureros, a renunțat la el.

Rezultate deosebit de favorabile am obținut prin tratamentul nostru la copii distrofici sub vîrsta de un an, la care boala a fost agravată de ulcere atone produse prin necroză stafilococică. În funcție de întinderea ulcerelor și de starea generală a bolnavilor cele patru cazuri tratate de noi s-au vindecat în 10—28 zile.

În sfîrșit amintim încă rezultatele noastre obținute în tratamentul ulcerelor de crom, deoarece astfel de cazuri am avut mai multe și rezultatele terapeutice au fost cele mai bune. Tratamentul a fost aplicat la ambulanța unui dispensar de uzină de către unul din colaboratorii noștri. În funcție de mărimea ulcerelor, în urma aplicării repetate a pansamentelor cu omogenizat de embrion la 2—3 zile, toate cele 32 cazuri s-au vindecat în 8—37 zile, pe cîtă vreme vindecarea spontană a cazurilor netratate durează 6—8 luni după părăsirea locului de muncă nociv.



Fig. nr. 1.: Bărbat de 48 ani, ulcer crural, înainte de tratament.



Fig. nr. 2.: Bărbat de 48 ani, ulcer crural la a 25-a zi după începutul tratamentului.



Fig. nr. 3.: Femeie de 55 ani, ulcer crural înainte de tratament.



Fig. nr. 4.: Femeie de 55 ani, ulcer crural la a 7-a zi după începutul tratamentului.

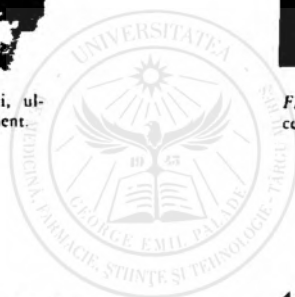




Fig. nr. 5.: Băiat de 5 luni, necroză stafilococică, înainte de tratament.



Fig. nr. 6.: Băiat de 5 luni, necroză stafilococică, la a 22-a zi după începutul tratamentului.



Fig. nr. 7.: Femeie de 43 ani, escară înainte de tratament.



Fig. nr. 8.: Femeie de 43 ani, escară la a 50-a zi după începutul tratamentului.

## Discuții

Rezultatele noastre completează și întăresc rezultatele asemănătoare din literatură. De aceea vom rezuma pe scurt publicațiile care au mai multe contingente cu cercetările noastre.

După publicațiile lui *Carrel*, unii cercetători au început să studieze în anii 1926—29 influența extractului embrionar asupra procesului de vindecare a rănilor. *Carnot* și *Terris* (1) au aplicat cu succes extract glicerinos de embrion pe plăgi cutanate cu proastă tendință de vindecare. *Roulet* (20, 21), infiltrând o singură dată cu extract embrionar regiunile învecinate unor excizării de tegument al spatelui cobailor, a constatat că durata vindecării plăgilor s-a redus la jumătate sau la o treime față de animalele martore. *Wallich* (25), pansind plăgi cutanate de cobai și plăgi umane atone, a obținut vindecări accelerate. *Schloss* (23) aplică pansamente cu omogenizat de embrion pe diferite plăgi umane și observă pe lângă vindecarea lor mai rapidă și faptul că sub acțiunea omogenizatului embrionar și regenerarea unghiei se începe de două ori mai repede.

În ciuda rezultatelor experimentale încurajatoare aceste posibilități nu se valorifica practic, fapt cu atât mai surprinzător cu cât o serie de metode mai puțin fiziologice și teoretic mai puțin fundamentate se folosesc de mai multe decenii și pînă astăzi. Abia în al patrulea deceniu al secolului unii cercetători reiau tratamentul cu substanțe embrionare. Autorii sovietici au dobindit o experiență valoroasă pe material uman și veterinar cu privire la acțiunea favorabilă în tratamentul arsurilor termice și chimice ale trefoanelor embrionare. În parte pe baza acestor rezultate, tratamentul cu substanțe embrionare a fost aplicat în chirurgia de război (10, 17). La începutul celui de al cincilea deceniu al secolului nostru *Domeniconi* și colab. (8) au observat accelerarea vindecării plăgilor osoase sub influența extractului embrionar.

Pe lângă aplicarea în practica terapeutică, unii cercetători au încercat mai recent să clarifice natura substanțelor citostimulatoare ale extractului embrionar complex (7, 14, 15, 16, 19). Rezultatele lor însă nu sînt concordante și deși unele fracțiuni ale extractului embrionar au dus la o proliferare celulară puternică, totuși se pare că extractul proaspăt embrionar integral are cel mai puternic efect.

Deși diferiți autori au folosit metode diferite de aplicare, în majoritatea cazurilor aplicarea locală a dat cele mai bune rezultate. Extractul embrionar, injectat în țesuturile învecinate leziunii, aplicat în pomadă sau sub formă de comprese, a dat rezultate la fel de bune. Este unic și interesant cazul relatat de *Domeniconi* și colab., în care extractul embrionar administrat peroral a dat rezultat bun. În cele ce urmează, ne vom întoarce încă asupra acestei observații.

Numărul aplicărilor depinde de tendința de vindecare a leziunii. În cazul unor leziuni cu bună tendință de vindecare ne putem aștepta la rezultate mai puțin spectaculoase decît în cazul plăgilor atone cu proastă tendință de vindecare. Experiența cercetătorilor sovietici, cit și ale noastre, arată că pe lângă plăgile atone de origine trofică, substanțele embrionare au importanță mai mare în tratamentul arsurilor termice sau chimice. În astfel de cazuri fenomenele inflamatoare și toxice cedează repede și, ceea ce este la fel de important, rezultatele cosmetice sînt și ele favorabile (26). Pe lângă aceste avantaje, tratamentul cu extract embrionar ajută și prinderea grefelor cutanate în cazuri de leziuni întinse ale epidermului (10).

Acțiunea pare a fi în primul rînd locală. La fel ca și în cultura de țesuturi, stimularea proliferării tisulare locale este evidentă. În cazul leziunilor de mică întindere, absorbția pe această cale este prea mică pentru a produce o acțiune generală. Totuși nu ar fi justă nesocotirea totală a posibilității unei acțiuni generale prin absorbție în cazurile de leziuni întinse, tratate în repetate rînduri și timp mai îndelungat, cu atât mai mult cu cât în experiențele lui *Domeniconi* (8) extractul embrionar s-a dovedit a fi eficace

și în administrarea perorală. Aceste cercetări sînt în concordanță cu rezultatele cercetărilor biochimice, conform cărora principiul activ are dimensiuni moleculare reduse, este dializabil și are un conținut redus de azot (6, 12, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 24, 27). Este posibil deci ca fermenții digestivi să nu hidrolizeze mai departe și să nu inactiveze extractul embrionar. În acest caz a trebuit să aibă loc fără îndoială și o acțiune generală.

Din punct de vedere practic stabilirea exactă a naturii principiului activ este de importanță secundară. După cum reiese din cercetări, este probabil vorba de mai mulți factori a căror acțiune se completează reciproc în mod avantajos. În orice caz principiile active ale extractului embrionar se deosebesc de stimulatorii biogeni ai lui *Filatov*. Școala filatoviană utilizează pentru prepararea stimulatoarelor țesuturi adulte; or, extractele tisulare preparate cu aceeași metodă ca extractul embrionar, cu excepția extractului leucocitar și a celui din sarcomul lui Rous, inhibează proliferarea celulară (11). Unele dintre influențele necesare dezvoltării stimulatoarelor biogeni, ca de ex. razele X sau metodele chimice de precipitare, inactivează extractul embrionar. Pentru natura deosebită a celor două substanțe pledează și faptul că extractul filatovian se sterilizează la 120° C. pe cînd extractul embrionar se inactivează deja la 56° C în cîteva minute (6, 7). Însă această ultimă constatare, fără cercetări experimentale corespunzătoare, nu poate fi considerată pe deplin valabilă în tratamentul plăgilor, deoarece sînt date care arată că extractul embrionar conține și componente termostabile (11, 16). Aceste componente, fără acțiune asupra fibroblaștilor, au arătat efecte favorabile asupra proliferării elementelor epiteliale.

Cercetările noastre au arătat de asemenea că presatul embrionar favorizează în primul rînd dezvoltarea țesutului de granulație în procesul de vindecare (26). Accelerarea epitelizării este mai puțin evidentă. În tot cazul dezvoltarea unui viguros țesut de granulație este de importanță decisivă din punct de vedere al vindecării plăgilor atone, deoarece epiteliul migrează din marginile plăgii pe acest țesut sănătos. Din acest punct de vedere acțiunea favorabilă a extractului sau a omogenizatului integral de embrion este indiscutabilă.

*Sosit la redacție: 22 octombrie 1965.*

#### Bibliografie

1. CARNOT P., TERRIS E.: C. R. Soc. Biol. (1926), 27, 655; 2. CARREL A.: C. R. Soc. Biol. (1911), 71, 416; 3. CARREL A.: Journ. Exp. Med. (1922), 36, 385; 4. CARREL A., EBELING A. H.: Journ. Exp. Med. (1923), 38, 499; 5. CARREL A.: Journ. A.M.A. (1924), 32, 255; 6. CARREL A., BAKER L.: C. R. Soc. Biol. (1927), 95, 359; 7. CRĂCIUN E.: La culture des tissus, biologie expérimentale, Ed. Masson, Paris (1931), 176; 8. DOMENICONI S., FAGGIOTTO F., BIAVATI F.: Boll. soc. Ital. biol. sperim. (1953), 9—11, 1837; 9. FISCHER A.: Gewebeskulturen, München (1927); 10. GOLBERG D. I.: Sov. med. (1949), 6, 15; 11. HEATON N. B.: Journ. Path. and Bact. (1929), 32, 565; 12. HARRIS M., KUTSKY R. J.: Exptl. Cell. Res. (1954), 2, 327; 13. KIAER S.: Arch. f. klin. Chir. (1928), 148, 146; 14. KUTSKY R. J., HARRIS M.: J. Cellular and Compar. Physiol. (1954), 2, 193; 15. KUTSKY R. J., TRAUMAN R., LIEBERMAN M., CAILEAU R. M.: Exptl. Cell. Res. (1956), 1, 48; 16. LU K. H., WINNICK T.: Exptl. Cell Res. (1955), 3, 502; 17. MARINESCU V.: Tratamentul arsurilor, Ed. Acad. R.P.R. București (1953), 17; 18. ROSENBERG SH., ZITZER E., KIRK P. L.: The Journ. of gen. Physiol. (1953), 2, 231; 19. ROSENBERG SH., KIRK P. L.: The Journ. of gen. Physiol., (1953), 2, 239; 20. ROULET FR.: C. R. Soc. Biol. (1926), 24, 390; 21. ROULET FR.: Ann. d'Anat. path. et d'Anat. norm. Méd. chir. (1927), 4, 337; 22. SCHAZILLO B. A.: Arch. f. exptl. Zellforsch. (1927), 1, 160; 23. SCHLOSS W.: Arch. klin. Chir. (1928), 151, 701; 24. TIEDMANN H.: Naturwiss. (1955), 20, 560; 25. WALLICH R.: C. R. Soc. Biol. (1926), 37, 1480; 26. WIENER F., MANOLESCU N., HORVÁTH P.: Orv. Szemle (1955), 3, 27; 27. WRIGHT P. G.: Journ. Exp. Med. (1926), 43, 591.