

CERCETĂRI ASUPRA ENCEFALOPATIILOR EXPERIMENTALE

XXV. Influența heparinei asupra evoluției morfologice a encefalomielitei alergice experimentale

F. Gyergyay, T. Feszt, J. Kelemen, Mirela Becuș-Laurențiu

Encefalomielita alergică experimentală (EAE) este una dintre metodele cele mai frecvent utilizate în neuropatologia experimentală. Cu toate că există deosebiri fundamentale între EAE și scleroza în plăci, ea reprezintă singurul model experimental al acesteia. Astfel cercetarea influențabilității EAE are o importanță deosebită, fiindcă prin ea se poate clarifica modul de acțiune al unor procedee terapeutice utilizate în medicina umană.

Bazându-se pe observațiile făcute de Putnam (21), mulți autori au atribuit un rol determinant trombozelor venulare multiple în etiopatogeneza sclerozei multiple. După teoria lui Courville (3), scleroza în plăci ar fi consecința unei microembolizări grăsoase ale capilarelor cerebrale. Huszák și colab. (14, 15) au pus în evidență la acești bolnavi tulburări importante ale coagulării sanguine. Cunoscând acțiunea anticoagulantă și lipotropă a heparinei, mai mulți autori au încercat aplicarea medicamentelor anticoagulante în terapia sclerozei în plăci, cu rezultate inconstante.

Pe baza acestor considerente și pentru că nu am găsit date privind la acțiunea heparinei asupra evoluției EAE, ne-am propus studierea problemei. Efectuarea acestor cercetări o justifică și acțiunea biologică multiplă a heparinei, exercitată asupra activității celulelor mezenchimale și SRH, asupra permeabilității capilare și asupra glandelor endocrine — elemente care intervin și în patomecanismul EAE (20).

Material și metode

Experiențele le-am efectuat pe 60 iepuri și 40 cobai, împărțiți în loturi după cum urmează:

În lotul I. la 20 de iepuri și 10 cobai, am provocat EAE, injectând iepurilor câte 1 ml, cobailor 0.5 ml vaccin antipertussis și după 3 zile am început inocularea emulsiei encefalitogene (câte 1, respectiv 0.5 ml intradermic din 5 în 5 zile) în talpa iepurilor sau în regiunea cefei la cobai. Emulsia encefalitogenă este compusă din omogenizat din măduva spinării de bou, în apă carbolizată (0.25%) 1:1 și o cantitate identică de ulei de parafină, care conține 2 mg/ml de mycobacterium smegmatis distrus prin autoclavare; și Tween 20.

În lotul II. la 20 de iepuri și 10 cobai, concomitent cu emulsia encefalitogenă am administrat tot a doua zi câte 1000 U.I. heparină CIF iepurilor, respectiv câte 500 U.I. cobailor.

În lotul al III-lea, 10 iepuri și 10 cobai, am administrat animalelor numai heparină în doza menționată.

Lotul al IV-lea, 10 iepuri și 10 cobai, sănătoși și netratați au servit drept martori.

Animalele au fost controlate zilnic și au fost sacrificate după 30 de zile de la începutul tratamentului cu emulsia encefalitogenă. S-a recoltat creierul, măduva spinării, fragmente din organe (splină, ficat, plămâni, rinichi, miocard), locul injectării a emulsiei și limfoganglionii regionali. Pe lângă tehnicile obișnuite, preparatele din sistemul nervos au fost colorate cu metoda Nissl, metoda Loyez pentru mielină și reacția PAS pentru punerea în evidență a mucopolizaharidelor.

La iepuri tratamentul cu heparină nu a modificat incidența EAE, iar în cazul cobailor incidența îmbolnăvirii a crescut semnificativ. Cu ocazia examenului histologic al creierului și al măduvei spinării la ambele specii am regăsit modificările caracteristice pentru EAE. Astfel: infiltrații limfo-histiocitare perivenoase, în formă de manșoane, dispuse în special în zona subcorticală, dar și în alte teritorii ale encefalului, precum și în leptomeninge; focare gliale, epiteloide și necrotice, mai frecvent la nivelul scoarței; modificări anoxice-vasculare ale celulelor nervoase; precum și demielinizări perivasculare, corespunzător venelor cu și fără leziuni inflamatoare.

Mucopolizaharidele dau în general o reacție slabă în sistemul nervos central. Secțiunile colorate cu metoda PAS apar în roz, cu o reacție mai vie în perețele vaselor și în plexurile corioide. La animalele cu EAE se observă o creștere semnificativă a intensității reacției PAS în pereții vaselor inflamate și în zonele de infiltrații perivasculare; aspect, care nu se modifică la tratamentul cu heparină.

La animalele din alte serii de experiențe, la care am studiat diferitele aspecte ale EAE am putut constata numai excepțional prezența leziunilor hemoragice. În schimb la animalele cu EAE și tratate cu heparină am observat multe hemoragii punctiforme sau mai dezvoltate, hemoragiile subarahnoidiene și intracerebrale; reacțiile hemoragice au fost mai frecvente la cobai.

Urmărind modificările histopatologice ale organelor interne la animalele cu EAE, am regăsit leziunile descrise anterior (7, 10). La animalele cu EAE și tratate cu heparină, ne-a surprins lipsa sau prezența într-o formă mult mai redusă a acestor leziuni. Chiar și leziunile de la nivelul injectării emulsiei encefalitogene, precum și din limfoganglionii regionali au fost mult reduse față de cele observate la animalele cu EAE netratate cu heparină.

La animalele martore, tratate numai cu heparină (lotul III) nu am observat modificări nici la nivelul sistemului nervos central, nici în celelalte organe studiate.

Discuții

Experiențele noastre arată că tratamentul cu heparină nu modifică în mod unitar incidența EAE, ducând în unele cazuri chiar la creșterea acesteia, dar în majoritatea cazurilor produce leziuni hemoragice îndeosebi în creierul animalelor.

Heparina poate interveni în procesul EAE pe mai multe căi. Acțiunea antitrombotică și antiembolizantă nu pare să fie așa de importantă, fiindcă și la bolnavii de scleroză în plăci trombozele venulare reprezintă un fenomen secundar (14, 18). În EAE însă, cu toate că există leziuni vasculare, nu avem evidența unor astfel de leziuni. Din experiențele lui Wüthrich (26), reiese că microembolizarea experimentală a arterelor cerebrale nu a modificat incidența EAE.

În acțiunea heparinei un efect mai important îl are acțiunea antișoc. Prin administrare de heparină se poate atenua șocul anafilactic (6) sau șocul hemolitic (19), și se pot inhiba sau opri reacțiile anafilactice in vitro (9). Sarre (23) a observat agravarea nefritei Masughi sub acțiunea heparinei, însă Halpern și colab. (12) comunică că heparina inhibă modificările histologice și biochimice din această boală. Garin și Basso (8) au arătat că la animalele de experiență, administrarea de heparină inhibă hiperplazia sistemului reticulo-histiocitar, determinată de extractul de splină. În afară de aceste acțiuni, heparina are un efect deprimant asupra proceselor inflamatorii și de cicatrizare (14, 20).

Toate aceste fenomene explică și observația noastră, că la animalele tratate cu heparină, modificările histologice de la nivelul diferitelor organe

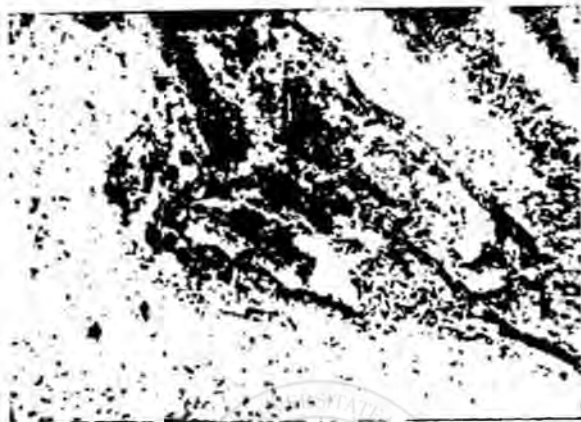


Fig. nr. 1: Creier de cobai care a primit tratament encefalitogen și i s-a administrat heparină. Infiltrație limfo-histiocitară a leptomeningelui cu zone hemoragice din jur. Colorație H. E. Microfotogramă cu aparat MC₁, Ob. 6 x, Oc. F₁

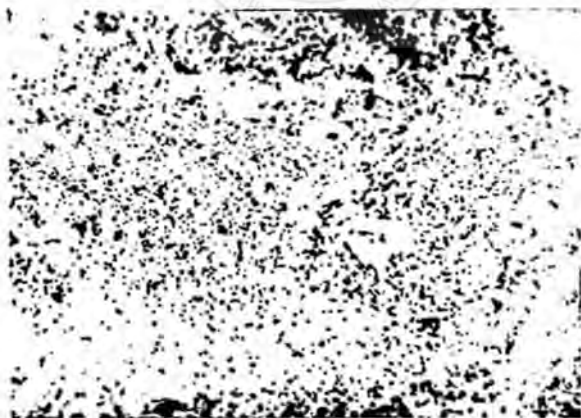


Fig. nr. 2: Creier de cobai din același grup de experiență. Zonă de infiltrație limfo-histiocitară cu hemoragii în substanța cerebrală subcorticală. Leziuni neuronale difuze în zona afectată. Colorație Nissl, microfotogramă cu aparat MC₁, Ob. 10 x, Oc. F₁

(plămîni, ficat, splină, limfoganglioni) au fost mult mai atenuate, ba chiar și reacția locală ce apare la locul injectării emulsiei encefalitogene a fost mai puțin pronunțată. Este interesant faptul, că pe lângă această acțiune net inhibitoare observată la nivelul diferitelor organe, în sistemul nervos central nu s-a putut constata o ameliorare a leziunilor, ci în unele experiențe acestea s-au agravat. Această observație arată că evoluția leziunilor tisulare din creier și din organele viscerale decurge prin mecanisme diferite.

O altă posibilitate pusă în legătură cu efectul heparinei asupra dezvoltării FAE, constă în acțiunea ei exercitată asupra metabolismului lipidic (22, 24). Heparina duce la dispariția lipemiei, activează lipazele și inhibă depozitarea lipidelor în țesuturi (2, 11, 17, 25). Datorită acestei acțiuni se produce resorbția și metabolizarea mai rapidă a emulsiei encefalitogene, fapt care explică de ce modificările morfologice de la nivelul organelor parenchimatose, sînt mult mai atenuate.

Heparina determină și scăderea rezistenței capilare (5, 16), creșterea permeabilității barierei hemo-encefalice, fenomen care explică de ce în experiențele noastre, tratamentul cu heparină a dus la apariția modificărilor hemoragice la nivelul sistemului nervos. În EAE, unde vasele cerebrale sînt lezate, această acțiune a heparinei este mult mai evidentă. De asemenea, s-au observat hemoragii difuze în creier la bolnavii mai vîrstnici cu tromboză cerebrală și tratați cu heparină (1, 13).

Experiențele noastre arată că EAE reprezintă un proces complex al organismului, în care modificările S.N.C. pot fi divergente de cele observate la nivelul altor organe. Această acțiune își găsește explicația prin aceea, că heparina prin efectul ei farmacodinamic influențează în mod variat, diferitele procese patologice din cadrul EAE.

Sosit la redacție: 6 iunie 1967.

Bibliografie

1. ASTRUP T.: Efficiency and limitations of anticoagulant therapy in arterial thrombosis. Karger, Basel (1958);
2. BAZADJIEVA E., VRBANOV G.: Probl. endokrin. gormon. (1966), 12, 45;
3. COURVILLE C. B.: Bull. Los Angeles Neurol. Soc. (1959), 24, 187;
4. DEUTSCH E., BENDA L., ZISCHKA W.: Bibl. Cardiologia (1958), Suppl. 8, 37;
5. DUX E., GÁBOR A.: Kísérletes orv. tud. (1957), 9, 62;
6. DYCKERHOFF H., MARX R., ZIEGLER W.: Z. ges. exp. Med. (1941), 108, 772;
7. FESZT T.: Revista Medicală, (1963), 9, 303;
8. GARIN L., BASSO A.: Sperimentale (1957), 107, 271;
9. GOOD A. R., THOMAS I. J.: Lab. Clin. Med. (1952), 40, 804;
10. GÜNDISCH M., GYERGYAY F., FESZT T.: A VI-a Confătuire interregională de morfologie, Timisoara 1963;
11. HAHN P. F.: Science (1943), 98, 19;
12. HALPERN B., MILLEZ P., LAGRUE G., FRAY A.: Nature (1965), 205, 237; Presse méd. (1965), 73, 57;
13. HUGUES J., ROSKAM J., LECOMTE J.: Bibl. Cardiol. (1958), Suppl. 8, 16;
14. HUSZÁK I.: Psych. Neurol. (Basel), (1958), 136, 215; Acta med. Hung. (1958), 11, 321;
15. HUSZÁK I., SZÁK J.: Acta med. scand. (1950), 138, 48;
16. KELENTEY B., FÖLDES I., LIPÁK J., CSONGOR J.: Kísérletes orv. tud. (1964), 16, 363;
17. LAZZARINI-ROBERTSON A.: Angiology (1961), 12, 525;
18. LEHOCZKY T.: Orvosi Hetilap (1954), 95, 210;
19. PANASEWICZ J.: Acta physiol. pol. (1957), 8, 41;
20. PERLICK E.: Anticoagulantien, 3. Aufl. Thieme, Leipzig 1964;
21. PUTNAM T. J.: Arch. Neurol. Psychiatr. (1937), 37, 1298;
22. SAGE R. H., TUDOR R. W.: Brit. Med. J. (1958), 1, 1160;
23. SARRE H.: Dtsch. med. Wschr. (1961), 86, 714;
24. SCHETTLER G.: Arteriosclerosis. Thieme, Stuttgart, 1961, 25.
25. SHORE B., SHORE V.: Am. J. Physiol. (1961), 201, 915;
26. WÜTHRICH R.: Probleme der experimentellen allergischen Encephalomyelitis. Karger, Basel, 1964.