

Catedra de anatomie umană și medicină operatorie (cond.: prof. T. Maros, doctor-docent) a I.M.F. Tg.-Mureș

CU PRIVIRE LA EFECTELE HEPATOINHIBIToare ALE UNOR FACTORI CU UTILIZARE LARGĂ ÎN PRACTICA MEDICALĂ

T. Maros, L. Seres-Sturm, E. Bălint, E. Poenaru

Clorpromazinele, Cortisonul și razele X sînt des folosite în practica medicală, fără să li se cunoască mai îndeaproape unele efecte care restring sfera lor de aplicabilitate.

Cercetări mai vechi efectuate în laboratorul nostru au scos în evidență acțiunea inhibitoare a Clorpromazinei asupra elementelor mezenchimatoase (1—8) fapt ce ne-a determinat să studiem influența acestui preparat asupra regenerării hepatice.

În ce privește Cortisonul, un șir întreg de investigații experimentale și clinice au arătat că acesta poate provoca necroze hepatice (9), degenerescenta grasă a parenchimului hepatic (10—16), hiperplazia tramei reticuline (17—20) și a fibrelor colagene (21) în ficat, precum și scăderea conținutului de acizi nucleici în hepatocite (22). Din acest motiv unii autori (12) sînt de părere că Cortisonul ar favoriza apariția fibrozei și cirozei hepatice. Constatările de mai sus ne-au îndemnat să cercetăm efectele acestui preparat asupra procesului de refacere a țesutului hepatic.

Ipoieza de lucru care a servit ca punct de pornire al studiului nostru, despre influența razelor X asupra regenerării ficatului, se bazează pe observațiile care au arătat că iradierea organismului cu raze Röntgen provoacă în ficat necroze în focar și degenerescenta grasă a parenchimului (23), scăderea mitozelor (24—30) și înmulțirea poliploidelor, precum și diminuarea biosintezei acizilor nucleici în celulele ficatului (31—35).

Material și metodă

La aprecierea gradului de regenerare hepatică ne-am servit de testul hepatectomiei subtotale, experimentat și aplicat de noi în numeroase cercetări, sintetizate într-un volum în curs de editare (36). Investigațiile au fost efectuate pe 344 șobolani albi, tineri, de ambele sexe, împărțiți în următoarele loturi:

Lotul „M” (martor) cuprinde 110 șobolani, la care am executat o hepatectomie parțială după metoda Higgins și Anderson (37), sacrificările făcîndu-se la 24 ore, respectiv la 3, 7, 14 și 21 de zile după intervenție.

Lotul „L” numără 42 șobolani, tratați zilnic cu amestecul: Largactil, Fenergan aa. 50 mg, Mecodin 10 mg, revenind o doză de 3 mg Largactil/kg corp. Injecțarea a început cu o zi înainte de hepatectomie, fiind continuată pînă la sacrificarea animalelor (ca mai sus).

Lotul „C” totalizează 62 șobolani, cărora li s-a administrat intraperitoneal 17-oxy-11 dehydrocorticosteronacetat „Scheroson” (Schering) în doze de 10 mg, tratamentul începînd cu 3 zile înainte de operație și aplicîndu-se pînă la termenii mai sus indicați.

Lotul „R₁” numărînd 65 șobolani, cărora li s-a aplicat 300 r pe regiunea ficatului, într-o singură ședință (kv—160, mA—5, filtru—0.5 Cu, cimp 10/15, distanță focală 30 r (min. = 51, timp de iradiere 5 min. și 21 sec.).

Lotul „R₂” cuprinde 65 șobolani, cu aceeași doză de iradiere pe regiunea cefalică.

Cîte 10 șobolani din cele două loturi iradiate au servit ca etalon la aprecierea leziunilor provocate de razele X. Restul au fost hepatectomizați la 3 zile după iradiere, apoi sacrificați în ordinea menționată.

Determinarea regenerării ponderale s-a făcut cu ajutorul formulei lui *Canzanelli* și colab. (38) cu indicii de corecție propuși de *Bengmark* și *Olsson* (39). Materialul fixat în formol și în soluția Carnoy a fost prelucrat cu metodele: HeEo, Sudan III, reacția Feulgen și verde de metil-pironină. Mitozele (m) și celulele binucleate (bi) sint raportate la 2000 de hepatocite la fiecare animal.

Rezultate

În tabelul I redăm valorile procentuale medii ale cîștigului ponderal hepatic, în comparație cu lotul „M”.

Tabelul nr. 1.

		Zile după hepatectomie				
		3	7	14	21	
M	Nr. de animale	25	25	25	25	
	Reg. %	$\bar{x} \pm S \bar{x}$	73.6±1.1	83.1±0.2	90.8±0.7	100.6±1.5
L	Nr. de animale	10	10	9	8	
	Reg. %	$\bar{x} \pm S \bar{x}$	46.7±4.2	53.0±3.4	82.3±2.8	98.5±2.7
		t	8.606	13.250	3.795	0.492
		P	0.001	0.001	0.001	0.70
C	Nr. de animale	15	22	10	10	
	Reg. %	$\bar{x} \pm S \bar{x}$	62.5±2.0	68.5±2.4	79.1±2.1	90.6±2.2
		t	4.912	6.978	6.330	3.352
		P	0.001	0.001	0.001	0.01
R ₁	Nr. de animale	10	10	10	10	
	Reg. %	$\bar{x} \pm S \bar{x}$	44.1±5.0	55.4±3.3	84.1±2.4	92.9±2.2
		t	7.920	12.408	3.144	2.645
		P	0.001	0.001	0.01	0.02
R ₂	Nr. de animale	10	10	10	10	
	Reg. %	$\bar{x} \pm S \bar{x}$	62.9±4.2	73.7±1.7	89.5±1.2	92.5±1.4
		t	3.392	7.392	0.619	2.904
		P	0.01	0.001	0.60	0.01

În tabel nu sint introduse rezultatele obținute la 24 de ore, deoarece la acest interval nu am găsit diferențe în raport cu martorii hepatectomizați.

În descrierea tabloului microscopic ne rezumăm doar la datele esențiale:

Lotul „L”. Regenerarea evoluează cu o congestie sinusoidală ceva mai accentuată decît la martorii, steatoza însă este mai redusă și mai limitată ca extindere. ARN citoplasmatic apare ceva mai redus la 7 zile, devenind mai exprimat la 14 zile în comparație cu lotul martor.

Lotul „C”. Se evidențiază o steatoză masivă, ce se menține ridicată și în zilele 14 și 21, contrastînd cu aspectul normal al martorilor. ARN nuclear și citoplasmatic este scăzut față de martori, în zilele 1 și 3.

La grupele de șobolani iradiați și cu ficatul integru am observat o hiperemie porto-sinusoidală (mai accentuată la R_1), steatoză pulverulentă difuză (la „ R_2 ”), picături sudanofile grosolane dispuse în sectoare (la „ R_1 ”) cu tendință de scădere treptată spre ziua 7-a și în continuare; grupul „ R_2 ” făcînd o ascensiune în ziua 14-a, urmată de o nouă scădere înspre ziua 21-a. ARN și ADN sînt în deficit față de martori în ziua a 3-a.

Lotul „ R_1 ” (hepatectomizat) prezintă în primele 3 zile o hiperemie și steatoză accentuată. ADN și ARN scăzut în comparație cu lotul „M”. La 7—14 zile hiperemia sinusoidală și steatoza difuză se menține cu aceeași intensitate. ADN este ușor crescut, ARN ceva mai scăzut decît la martori. În ziua 21, steatoza și hiperemia sînt ceva mai reduse. ADN și ARN la același nivel cu al martorilor.

După ziua 3-a se instalează fenomene de anizocarie, anizocitoză și citoliză, ce se mențin pînă la sfîrșitul perioadei de observație.

Lotul „ R_2 ” (hepatectomizat). Hiperemia, la început moderată, devine foarte accentuată în ziua 14-a, regresînd apoi din nou. Steatoza, inițial foarte exprimată, scade la 3 zile, apoi se intensifică la 7 zile, scăzînd din nou și menținîndu-se și în ziua 21. ADN și ARN scăzut în zilele 1 și 3, ușor crescut în zilele 7 și 14, revine la normal în ziua 21.

Anizocitoza și anizocaria apar pronunțate și se mențin pînă în ziua 21. Citoliza se evidențiază sporadic.

Rezultatele de mai sus sînt prezentate în tabelul nr. 2.

Valorile procentuale medii ale indicelui de mitoză și ale celulelor binucleate (în comparație cu lotul „M”) sînt redată în tabelul nr. 3.

Discuții

Din cele relatate rezultă că factorii studiați, exercită o acțiune inhibitoare asupra regenerării ficatului după hepatectomie. Cîștigul ponderal al ficatului restant rămîne în mod concludent sub valorile martorilor la loturile „C” și „ R_1 ”, pe toată perioada de observație.

Cercetînd fenomenul sub aspect microscopic, observăm că la lotul „L” steatoza este foarte redusă în primele 14 zile, în concordanță cu sporul scăzut al regeneratului. Acest fapt poate fi interpretat ca expresie a acțiunii inhibitoare pe care amestecul hibernizant îl exercită asupra rezervelor de energie din ficat (40). Hiperemia accentuată, prezentă pe toată durata experimentului, poate fi privită ca o vasoplegie, determinată de medicația hibernantă. Biosinteza acizilor nucleici nu este influențată esențial, în timp ce mitozele sînt inhibate în primele 3 zile (vezi tabelul nr. 3). Creșterea explozivă a hepatocitelor binucleate în etapa a doua a regenerării, poate fi socotită ca o contrareacție a organului, cu mecanismele regenerative un timp inhibate. Aceste constatări sînt în concordanță cu unele date anterioare, (41, 42) care subliniază faptul că hibernația medicamentoasă inhibă regenerarea hepatică, mai exprimat în prima etapă a procesului.

La lotul „C”, deși există o steatoză superioară martorilor, sporul ponderal hepatic este foarte scăzut. Aici remarcăm o reducere importantă a ARN, în concordanță cu indicele mitotic scăzut în primele trei zile. Aceasta dovedește că Cortisonul tulbură biosinteza proteinelor în ficatul pe cale de regenerare, opinie împărtășită și de alți autori (22, 43, 44). Rămînera în urmă a regenerării ponderale pe perioada 7—21 zile, se datorește probabil unui deranj citoenzimatic mai complex, ce nu a putut fi deocamdată elucidat.

Razele X provoacă la șobolani cu ficat integru o vasodilatație accentuată (în cazul iradierii regiunii hepatice), steatoză cu caracter diferit (după cîmpul iradiat; ficat sau cap), leziuni celulare și reducerea acizilor nucleici, în ambele cazuri.

La lotul „R₁” hiperemia și steatoza, mult superioare martorilor, sînt contradictorii cu rămînerea în urmă a regenerării ponderale. ARN se menține scăzut, la fel și ADN pînă în ziua 7-a, cînd se remarcă o ușoară creștere față de martori. Procentul mitozelor este de asemenea scăzut în prima săptămînă. Rezultă deci că razele Röntgen, proiectate pe regiunea ficatului, inhibă biosinteza proteinelor ce are loc în hepatocite.

Numărul ridicat al hepatocitelor poate fi interpretat ca o reacție de compensare a ficatului la alterările de citoliză, provocate prin iradiere.

La lotul „R₂” observăm aceeași reacție steatogenă, însoțită de hiperemie în a doua etapă a regenerării, fapt care nu concordă cu sporul ponderal redus al ficatului restant. Concentrația scăzută a acizilor nucleici în primele trei zile și numărul redus al mitozelor (mai ales în primele 24 de ore) vin în sprijinul ipotezei, că și în acest caz poate fi vorba de tulburări ale sintezei acizilor nucleici (24, 25, 27, 28, 30).

În mod analog la lotul „R₁” (dar mai puțin exprimat) apare creșterea celulelor cu doi nuclei, probabil ca o reacție de compensare a organului lezat.

Am găsit interesant să facem o corelație a datelor de mai sus, cu rezultatele unor cercetări efectuate de noi cu cîțiva ani în urmă, referitoare la influența razelor X asupra capacității coloidofixatoare a celulelor Kupffer (45). Din aceste investigații se desprinde faptul că razele Röntgen — pe lângă tulburarea funcțiilor proprii hepatocitelor — duc la o scădere importantă a activității fagocitare în ficat, deranjînd așadar în totalitate mecanismele tisulare ale acestui organ.

Concluzii

1. Toți factorii studiați de noi determină o rămînere în urmă a regenerării macroscopice a ficatului rezecat.

2. Clorpromazina reduce steatoza consecutivă rezecției precum și numărul mitozelor, influențînd negativ mecanismele energetice necesare multiplicării celulare în ficat.

3. Cortisonul provoacă o steatoză accentuată și scăderea remarcabilă a ARN, respectiv a mitozelor. Se pare că influențează negativ biosinteza proteinelor, ducînd la încetinirea regenerării.

4. Razele X, cu unele deosebiri cantitative, în funcție de zona iradiată, provoacă o reacție steatogenă, leziuni distrofice și citoliză, însoțite de scăderea sintezei acizilor nucleici și a mitozelor.

5. Iradierea tulbură nu numai procesul de regenerare hepatică, dar și alte funcții ale acestui organ, ca de ex. mecanismele fagocitare ale elementelor RES din ficat.

6. Investigațiile noastre pun în lumină și unele fenomene de compensare ale ficatului supus acțiunii factorilor inhibitori, cum sînt: creșterea apreciabilă a hepatocitelor cu doi nuclei și sporirea temporară a acizilor nucleici. Acest efort compensator rămîne însă inefficient sub raportul regenerării masei hepatice îndepărtate.

Sosit la redacție: 21 noiembrie 1967.

Bibliografie

1. NÉBEL L., KAPITÁNY A., MESTER T.: Rev. Med. (1957). 4, 17;
2. MESTER T., KAPITÁNY A., NÉBEL L.: Rev. Med. (1958). 1, 40;
3. MÁTHÉ V., CZIMBALMOS S.: Spitalul (1960). 73, 1, 73;
4. MAROS T., CSIKY M., SERES-STURM L., MÁTHÉ V.: Ceskoslov. Morfologie (1961). 4, 431;
5. Idem: Arch. Mal. Coeur (1961). 6, 690;
6. MAROS T., CSIKY M., SERES-STURM L.: Acta Morph. Hung (1961). 1, 64;
7. VOFKORI J., LÁZÁR J., MÁTHÉ V.: Rev. Med. (1962). 1, 59;
8. MAROS T., MÁTHÉ V., VOFKORI J.: Rev. Med. (1963). 9, 2, 174;
9. GERMUTH F. G., GLEB A. N., OTTINGER B., OYAMA J.: Proc. Soc. Expl. Biol. (N. Y.) (1951). 76, 177;
10. ATERMAN K.: Lancet (1950). 2, 517;
11. RICH A. R., COCHRAN

Tabelul nr. 2.

Lotul:	24 ore			3 zile			7 zile			14 zile			21 zile								
	M	L	C	R ₁	R ₂	M	L	C	R ₁	R ₂	M	L	C	R ₁	R ₂	M	L	C	R ₁	R ₂	
Hiperemie	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	-	+	-	+	+	++
Anizocitoză anizocarie	+	+	+	++	++	+	++	++	++	++	+	-	+	+	++	-	-	-	+	++	++
Steatoză	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	-	-	++	++	+
ADN	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
ARN	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++

Tabloul histologic al ficatului

Tabelul nr. 3.

		M i t o z e					C e l u l e b i n u c l e a t e				
		24 ore	3 zile	7 zile	14 zile	21 zile	24 ore	3 zile	7 zile	14 zile	21 zile
"M"	%	6.0±0.4	4.3±0.3	1.9±0.1	0.8±0.1	0.09±0.01	3.4±0.3	6.6±0.3	5.4±0.2	4.3±0.6	3.8±0.2
	t	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
"L"	p	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	%	3.1±0.5	2.3±0.3	1.1±0.2	0.7±0.03	0.66±0.002	4.2±0.3	5.4±0.4	5.5±0.4	9.2±0.4	4.9±0.5
"C"	t	6.696	2.790	2.604	0.572	1.116	2.418	1.674	0.186	4.846	2.046
	p	0.001	0.02	0.05	0.60	0.30	0.05	0.20	0.90	0.001	0.10
"R ₁ "	%	3.9±0.5	3.5±0.3	1.8±0.1	1.0±0.1	0.08±0.001	4.5±0.2	5.9±0.3	6.4±0.4	4.7±0.3	4.6±0.3
	t	4.378	1.116	0.362	0.928	0.564	4.092	1.302	2.232	0.362	0.416
"R ₂ "	p	0.001	0.20	0.80	0.40	0.60	0.001	0.30	0.05	0.80	0.70
	%	2.4±0.3	2.1±0.3	1.7±0.2	0.9±0.1	0.07±0.001	6.5±0.3	8.2±0.3	9.3±0.7	10.4±0.6	8.7±0.7
"R ₂ "	t	9.300	2.976	0.744	0.126	0.826	9.320	2.976	5.754	6.696	8.184
	p	0.001	0.02	0.50	0.70	0.50	0.001	0.002	0.001	0.601	0.001
"R ₂ "	%	3.1±0.2	2.8±0.3	1.7±0.2	0.7±0.1	0.06±0.001	5.4±0.5	7.1±0.3	9.5±0.5	7.2±0.4	7.6±0.6
	t	8.614	2.026	0.744	0.537	1.108	4.908	0.930	9.300	2.790	7.998
"R ₂ "	p	0.001	0.10	0.50	0.60	0.30	0.001	0.40	0.001	0.02	0.001

T. H. McGOON D. C.: Bull. Johns Hopk. Hosp. (1951). 88. 101; 12. RIFKIN H. MARKS L. J., HAMMERMANN D. J., BLUMENTHAL M. J., WEISS A., WEINGARTEN B.: Arch. Int. Med. (1952). 89. 32; 13. STEINBERG H., WEBB W. M., RAFSKY H. A.: Gastroenterology (1952). 21. 304; 14. EVANS A., SPRINZ H., NELSON R.: Ann. Int. Med. (1953). 38. 1148; 15. TANYOL H., REMFUSS M. E.: Am. J. Dig. Dis. (1955). 22. 6. 169; 16. BASSLER R.: Acta Hepato-splen. (1962). 9. 23; 17. UNGAR H., FELDMAN J. D.: Am. J. Path. (1953). 29. 963; 18. DIENGOTT D., UNGAR A.: A.M.A. Arch. Path. (1954). 58. 449; 19. UNGAR H., LAUFER AL., DIENGOTT D.: Am. J. Path. (1956). 32. 4. 859; 20. WACHTER H. P.: Arzneim. Forsch. (1958). 8. 5. 295; 21. KOWALEWSKI K.: Acta Endocrin. (1961). 38. 3. 427; 22. BEN C.: Acta Anat. Sin. (1964). 7. 4. 374; 23. PAVEL I., CIMPEANU S., BARTOLOMEU T.: Medicamente de protecție hepatică. Ed. Min. I.P.C. București. 1965. 65; 24. WILLIAMS R. B. jr., DeLONG R. P., JAFFE J. J.: Am. J. Path. (1952). 28. 546; 25. CATER D. B., HOLMES B. E., MEE L. K.: Acta Radiol. (1956). 46. 655; 26. GERSHBEIN L. L.: Am. J. Physiol. (1956). 185. 245; 27. BELTZ R. E., VAN LANCCKER J., POTTER V. R.: Cancer Res. (1957). 17. 688; 28. KELLY L. S.: Effect of radiation on DNA synthesis in mammalian cells. In: Butler J. A. V. a. Katz B. Progr. in Biophys. a. Biophys. Chem. Pergamon Press, London. 1957; 29. BRYAN J. H. D., GOWEN J. W.: Anat. Rec. (1959). 134. 3. 541; 30. LEONG G. F., PES-SOTTI R. L., KREBS J. S.: J. Nat. Cancer Inst. (1961). 27. 131; 31. ALBERT M. D., BUCHER N. L. R.: Cancer Res. (1960). 20. 1514; 32. BOLLUM F. J., ANDEREGG J. W., McELYA A. B., POTTER V. R.: Cancer Res. (1960). 20. 1. 138; 33. WEISS S. B.: Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. (1960). 46. 1020; 34. HIATT H. H.: J. Mol. Biol. (1962). 5. 217; 35. CLERICI E., CAMMARANO P., MOCARELLI P.: Exp. Mol. Path. (1966). 5. 389; 36. MAROS T., SERES-STURM L.: Regenerarea ficatului (manuscris) în curs de editare; 37. HIGGINS G. M., ANDERSON M.: Arch. Path. (1933). 16. 226; 38. CANZANELLI A., RAPPORT D., GUILD R.: Amer. J. Physiol. (1949). 157. 225; 39. BENCHMARK S., OLSSON R.: Acta Hepato-splen. (1963). 10. 282; 40. MAROS T., SERES-STURM L.: Stud. cerc. Embr. Citol. (seria Citol.) (1964). 1. 39; 41. MARCONI G.: Arch. „De Vecchi“ Anat. Patol. (1958). 28. 1. 203; 42. MAROS T., SERES-STURM L., KOVÁCS V., VIRGINIA, KATONAI B.: Spitalul (1962). 72. 2. 147; 43. DUSTIN P.: Sang. (1950). 21. 297; 44. FERRARI V., HARKNESS R.: J. Physiol. (1954). 124. 443; 45. MAROS T., SERES-STURM L., RETTEGI C., BLAZSEK A.: Rev. Sci. Méd. (1963). 8. 3—4. 127.
