

PULVERIZĂRI CROMOSOMIALE SPLENICE INDUSE DE UN „VIRUS PASSENGER“ ACTIVAT PRIN ADMINISTRAREA HIN LA ŞOARECII C57BI 6

dr. Livia Chioreanu, dr. M. Chioreanu, dr. C. Székely

Studiul experimental al relaţiei HIN cu carcinogeneza îşi găseşte originea sa în patologia umană. Berencsi şi colab. (1952), Pompe (1956) şi Randazzo (1959) relatează transformarea malignă a unor leziuni tuberculoase cutanate după instituirea terapiei cu HIN, sau modificarea evoluţiei clinice a unei tumori pulmonare tratată accidental cu doze mari de HIN (cit. de 3, 23).

Studiile familiale efectuate de către Biehl şi Knight (cit. de 7, 25) au dovedit că există o variaţie considerabilă în modul în care indivizii metabolizează drogul, acest polimorfism fiind genetic determinat.

Pe de altă parte, multiple cercetări experimentale relevă acţiunea carcinogenă a HIN la diferite animale de laborator (2, 3, 4, 10, 11, 15, 16, 22, 24, 26, 27, 31, 33, 34, 39).

Pe lângă datele de mai sus, pornind şi de la unele relatări existente în literatură prin care HIN ar interfera cu structura şi sinteza acizilor nucleici celulari (2, 8, 9, 13, 15), ne-am propus studierea comportării cromosomilor sub influenţa unui tratament îndelungat cu doze mici de HIN.

Material şi metodă

Cercetările au fost efectuate pe 20 de şoareci înbred „pathogen free“ de sex feminin linia C57BI:6, crescuţi în laboratorul nostru, în vîrstă de 4—6 luni.

Administrarea HIN s-a efectuat la 15 animale timp de 84—91 zile, prin inj. s.c. de 0,2 ml zi în concentraţie progresiv mărită pînă la doza totală de 7—10,5 mg, după care animalele au fost lăsate în repaus două luni. Drept martori am folosit 5 animale de aceeaşi vîrstă şi sex.

La sacrificarea animalelor, după aprecierea greutăţii splenice la o balanţă de torsionare paralel cu recoltarea diferitelor fragmente de organe pentru examinări histologice şi histochimice, s-au făcut şi determinările cromosomiale din ţesutul splenic printr-o variantă a tehnicii Fox şi Zeiss.

Rezultate

1. În tot timpul experienţei şoarecii nu au prezentat manifestări de toxicitate cu excepţia unei pronunţate hipersecretii seboreice a regiunii dorsale, apărută la aproximativ 43 de zile de la începutul tratamentului şi care a persistat aproape două săptămîni.

2. Animalele supuse tratamentului cu HIN au prezentat în majoritate un considerabil spor de greutate corporală (3—11,5 gr), cu un panicul adipos subcutanat şi perivisceral deosebit de abundent.

3. La toate animalele tratate s-a putut constata o pronunţată hipertrofie splenică, cu valori cuprinse între 126—694 mg, faţă de 80—85 mg greutatea normală a splinei animalelor de control, confirmată şi de datele existente în literatură.

4. Indexul mitotic splenic este mult crescut de 13,5—44%, în comparaţie cu cel normal, care în general nu depăşeşte cifra de 7—10%.



Fig. nr. 1: Aspect de pulverizare parțială a cromosomilor în splenocit. Se remarcă un cromosom submetacentric și doi cromosomi acrocentrici încă de aspect normal. Giemsa, 1200 X

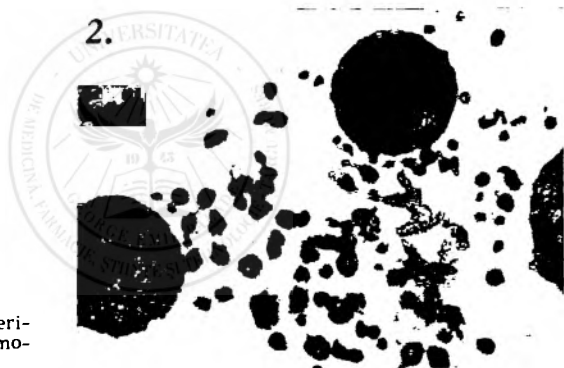


Fig. nr. 2: Aspect de pulverizare totală a unui set cromosomal. Giemsa, 1200X



Fig. nr. 3: Aspect de pulverizare al unui set cromosomal splenicitar cu formarea de „micronuclei”. Giemsa, 1200X



Fig. nr. 4: Splină; foliculi malpighieni mult măriți, pulpa roșie puternic infiltrată cu elemente limfoide. Hemalaun-Eozină, 166 X

Fig. nr. 5: Splină; detaliul din folicul arată celule limfoide mari tinere, cu numeroase figuri de mitoză și câteva celule reticulare. Hemalaun-Eozină, 666 X



Fig. nr. 6: Ficat; limita dintre un nodul leucemic voluminos și țesutul hepatic cu ușoară infiltrație grăsoasă. Hemalaun-Eozină, 333 X



Fig. nr. 7: Plămîn; infiltrație limfoidă difuză în pereții alveolari. Hemalaun-Eozină, 166 X

5. Examinările histologice și histochemice (colorația hematoxilină-eozină și colorația metil-verde pironină) evidențiază la toate animalele tratate o reacție leucemogenă limfatică evidentă

6. Studiul cromosomilor splenici la toate animalele tratate cu HIN evidențiază seturi cu pulverizări cromosomiale parțiale sau totale cu atât mai frecvente cu cât era mai pronunțată hipertrofia splenică.

Discuții și concluzii

Studiul experimental al relației HIN cu cancerogeneza, mult abordat cu deosebire în ultimii ani, relevă în funcție de animal, doză sau calea de administrare, acțiunea cancerigenă a HIN sau ai derivațiilor săi. Într-o mulțime de sale efecte neoplazice se semnalează frecvent și apariția leucemiei murine (28, 32, 37, 38).

Problema leucemiei în relație cu efectele substanțelor chimice cancerigene sau a Rx în infecția virală a fost semnalată relativ recent (12, 17, 18, 37, 38, 39). S-a raportat în repetate rânduri posibilitatea izolării unor virusuri din țesuturile afectate de procese neoplazice induse prin factori chimici sau iradiere cu raze Rx (1, 6, 11, 36, 40). Se cunoaște de asemenea stimularea sau facilitarea proprietăților cancerigene ale unui virus, prin administrarea concomitentă a acestuia cu o substanță chimică carcinogenă, fenomen descris în literatură sub denumirea de „enhancing effect” (efect de facilitare) (11). Această stimulare virală prin substanțe chimice s-ar putea manifesta în mod variat fie prin accelerarea procesului neoplazic; creșterea incidenței tumorilor; inducerea unei tumori evident maligne de către virusuri, care obișnuit induc leziuni benigne (Ahlström și Andrewes, cit. de 11) fie prin activarea unor „virusuri latente” și nepatogene pentru o specie dată denumite passengere.

Șoarecii C57Bl/6 reprezintă o linie rezistentă față de virusurile murine leucemogene (21). Ei nu reacționează niciodată prin leucemie la infecția virală, prezentând numai o splenomegalie de valorile inițiale de 80—85 mg la 460—490 mg. Cu toate acestea, animalele noastre experimentale tratate cu HIN alături de hipertrofia splenică prezintă și aspecte de pulverizări cromosomiale splenice, de grade variate, începând cu seturi în care întâlnim cromosomi întregi alături de cromosomi parțial sau total pulverizați (fig. nr 1) sau aglomerări de micronuclei (fig. 2, 3), aspecte care relevă cu certitudine acțiunea citopatogenă virală, precum stabilesc lucrările lui Nicols și alții (5, 14, 19, 29).

Determinarea indexului mitotic splenic pe aceleași lame ne dezvăluie valori mult crescute (13,5—44 %) comparativ cu acelea normale (7—10 %), exprimând în același timp și o hiperplazie marcată a splenocitelor.

Examinările histologice și histochemice (colorația haem. eoz. și metil-verde pironină) evidențiază la toate animalele din grupa experimentală focare infiltrative perivascularare circumscrise, sau infiltrații viscerale difuze cu celule intens pironinofile (mai mari decât limfocitele normale, cu nucleii hiperchromici rotunzi sau ușor ovalari cu un cerc perinuclear de citoplasmă bazofilă) larg distribuite, în diverse organe; dintre care timusul, splina și ficatul sînt cel mai puternic infiltrate (fig. nr. 4, 5, 6, 7).

În contextul celorlalți parametri, ca splenomegalia și mai ales pulverizările cromosomiale, am interpretat aceste infiltrate ca o reacție leucemogenă limfatică indusă de activitatea unui virus leucemogen latent (virus saprofit) natural persistent în această linie de șoareci și activat prin administrarea HIN, dar nemanifest la lotul de control.

Apariția leucemiei la șoarecii natural refractari la îmbolnăvirile leucemice spontane după administrarea HIN, ne pune problema mecanismului prin care intervine drogul în declanșarea acestor îmbolnăviri. Întrebarea care se ridică este dacă șoarecii conțin un agent leucemogen care este aparent de origine virală, activat prin administrarea HIN, sau acest factor a luat naștere prin acțiunea cancerigenă directă a HIN.

Apariția splenomegaliei dublată de un index mitotic splenic ridicat și pulverizări cromosomiale, de existența unor infiltrate leucemice limfatice cu largă distribuție viscerală (20), ne determină a pleda în favoarea primei supoziții cu atât mai mult cu cât cercetările electronoptice recente par să confirme prezența de particule virale în centrul germinali ai foliculilor limfatici la șoarecii normali C58Bl (Schwartzenbruder cit. de 30).

Datele actuale nu ne oferă suficiente puncte de reper în legătură cu modul de acțiune al unor asemenea agenți chimici cancerigeni. O contribuție interesantă în acest sens aduc cercetările recente ale lui *Berenbaum* și *De Mayer* (cit. de 11) care constată acțiunea de inhibare a proceselor imunologice sau a sintezei interferonului „in vitro” de către substanțele chimice cancerigene. Astfel, „efectul de facilitare” al unor substanțe chimice asupra răspunsului neoplazic în infecția virală ar putea fi mediat prin străpungerea apărării naturale împotriva acestor virusuri latente atât la nivel celular cât și sistemic.

Mecanismul de străpungere al apărării naturale a animalului împotriva acestor agenți virali poate fi asemănător cu acel prin care agenți diverși ca razele X, cortizonul sau vârsta înaintată a animalului gazdă induc efecte similare (11, 17, 18).

Rezultatele cercetării noastre pot prezenta interes în termenii problemei larg discutate a virusurilor latente („virusuri passenger”) în special a virusurilor leucemiei murine. Cercetările noastre se alătură acelor care atrag atenția asupra importanței acestor virusuri „saprofite” în cancérogenza indusă prin substanțe chimice fie ele chiar medicamente de uz curent în terapia umană. Ele dezvăluie un alt aspect al mecanismului probabil de acțiune al HIN, nelegat de acțiunea cancerigenă a grupării hidrazino-carbamil sau alkyl din molecula medicamentului după cum susțin cercetările mai noi (27), ci prin acest efect de facilitare („enhancing effect”), în sensul validării potențialităților oncogene ale unor virusuri murine „saprofite”, chiar atunci, când este vorba de animale în mod natural rafractare la asemenea îmbolnăviri.

Sosit la redacție: 14 ianuarie 1970.

Bibliografie

1. AGEENKO A. I.: Folia Biol (Praha, 1962), 8, 7; 2. ALEXANDER P., HIEGER I., LEVENTE A. L.: Nature (1966), 209, 5023; 3. BLANCIFIORI C., SEVERI L.: Brit. J. Cancer (1966), 20/3, 528; 4. BLANCIFIORI C., GIORNELLI-SANTILLI F. E., MILA U., SEVERI L.: Nature (1966), 212, 5060, 414; 5. BOVÉ A., BOVÉ J. G.: Pathol. et Biol. (1968), 16/11—12/13—14, 677; 6. CHAN G. și colab.: Science (1968), 159/3813, 437; 7. CLARKE C. A.: Genetics for the clinician, Sec. Ed. Blackwell, Scientific Publications, Oxford, 1964; 8. DRUCKREY H., IVANKOVIC S., PREUSSMAN R., BRUNNER U.: Experientia (1967), 23, 12, 1042; 9. DRUCKREY H., PREUSSMAN R., MATZKIES F., IVANKOVIC S.: Naturwiss. (1966), 53, 21, 557; 10. DRUCKREY H., PREUSSMAN R., MATZKIES F., IVANKOVIC S.: Naturwiss. (1967), 54/11, 285; 11. DURAN-REYNALS MARIA: Conf. on Murine leukemia (sept. 1966), Nat. Cancer Inst. Monograph 22, 389; 12. GRAFFI A., FEY F., SCHRAMM T.: Conf. on Murine leukemia (sept. 1966), Monograph. 22, 21; 13. HASHIMOTO S., IWAMOTO S.: Vitamins (Kyoto, 1964), 29/1, 12; 14. HATAO K. și colab.: J. Nat. Cancer Inst. (1968), 40/1, 165; 15. JUHÁSZ J., BALÓ J., SZENDE B.: Magy. Onkol. (1967), 11/1, 31; 16. KENDREY G., JUHÁSZ J., SZENDE B.: Morph. Orv. Szemle (1967), 7/3, 175; 17. NECHAMA-HARAN-GHERA, ALPHA PELED: Brit. J. Cancer (1967), 21/4, 730; 18. NECHAMA-HARAN-GHERA: Brit. J. Cancer (1967), 21/4, 739; 19. NIHCOLS W. W., LEVAN A., PERTTI A., NORRBY E.: Hereditas (1965), 54, 101; 20. NORIAKI I., YASUHIRO O., ARIMITSU F., MICHIIHIRO K.: J. Nat. Cancer Inst. (1968), 4/1, 97; 21. ODAKA T.: Jap. J. Exp. Med. (1967), 37/1, 71; 22. PEACOCK A., PEACOCK P. R.: Brit. J. Cancer.

(1966), 20/2, 307; 23. RANDAZZO S. D.: *Minerva Derm.* (1967), 79/8—9, 453; 24. ROE F. J. C., GRANT G. A., MILICAN D. M.: *Nature* (1967), 216/5113, 375; 25. SCHLOO T. W., BLUME K., GOEDDE H. W., FLATZ G., BHAINULAYA M.: *Hu-mangenetic.* (1967), 4/3, 274; 26. SCHWAN S.: *Pat. Pol.* (1967), 18 2, 295; 27. SEVERI L., BIANCIFIORI C.: *Growth.* (1966), 30/4, 367; 28. SIEGLER R., RICH M. A.: *Pathology of virus leukemia in the mouse. Pros. int. Symp. comp. Leukemia Res.* (Paris, 1967); *Bibl. haemat. Hr.* 33, 66 New-York Basel 1968; 29. STEMMAN S., SAKSELA E.: *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* (1968), suppl. 21, 101, 58, 30. SZAKÁL A. K., HANNA M. G.: *Exp. Mol. Path.* (1968), 8'1, 75; 31. SZENDE B., JUHÁSZ J., KENDREY G.: *Morph. Orv. Szemle* (1967), 7/3, 172; 32. TAKESI O., TADASHI Y.: *Jap. J. Exp. Med.* (1966), 36'1, 23; 33. TÓTH B., RUSTJA M.: *Int. J. Cancer* (1967), 2/5, 413; 34. TÓTH B., SHUBIK P.: *Science* (1966), 152/3727, 1378; 35. TÓTH B., SHUBIK P.: *Cancer Res.* (1966), 26/7, (I), 1473; 36. TÓTH B.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* (1963), 112, 873; 37. UPTON A. C., JENKINS V. K., WALBURG H. E., TYN-DALL R. L., CONKLIN J. W., WALD N.: *Observation on viral, chemical and ra-diation-induced myeloid and lymphoid leukemias in RF mice. Conf. on murine leukemia (sept. 1966), Monograph. 22, 329; 38. YOSHIDA T. H. și colab.: Ann. Rep. Nat. Inst. Genet. Japan* (1966), 17, 15; 39. ZILBER L. A., POSTNIKOVA Z. A.: *Conf. on murine leukemia (sept. 1966), Monograph. 22, 397.*
