

**FUNCȚIUNEA INIMII ÎN ȘOCUL HEMOLITIC
(EXPERIENȚE EXECUTATE PE PREPARAT CORD-PULMON
STARLING. REFERAT PRELIMINAR)**

Kovács Péter, Szabó István, Demeter András

Din observațiile noastre clinice (1) și experiențele efectuate pe animale (1,2) rezultă că electrocardiograma arată în șocul hemolitic semnele unei tulburări profunde a funcțiunii inimii. Pentru a studia mecanismul acestui fenomen, am examinat la câinii anesteziați cu cloraloză, modificarea tensiunii venoase în șocul hemolitic provocat prin administrare intravenoasă de sânge uman (2—3 ml dintr-o suspenzie de eritrocite pe kilo corp). În toate cele 6 experiențe, tensiunea înregistrată în vena femorală a început să se ridice concomitent cu micșorarea tensiunii arteriale, și tot timpul cât a durat șocul, a arătat ca într-o oglindă imaginea răsturnată a curbei tensiunii arteriale.

Faptul că tensiunea venoasă a crescut rapid, imediat după transfuzie, ne permite să presupunem că tulburarea funcțiunii cardiace în șocul hemolitic este un fenomen primar și nu numai consecința insuficienței circulatorii periferice.

luțelor în proliferare și nu pot fi puși în evidență în perioada de dezvoltare mai înaintată a tumorii.

5. Agenți filtrabili care provoacă papilome la om și animale. Această clasificare a agenților filtrabili ai tumorilor este în prezent cea mai exactă.

Scopul experiențelor noastre a fost examinarea transplantabilității prin filtrate și fracții de filtrate a tulpinii de tumoare de șoarece M. I. și a condițiilor sale de imunitate. În cursul experiențelor din ultimii ani, această tulpină a dat procentul cel mai ridicat în ceea ce privește transplantabilitatea tumorilor spontane; din cauza aceasta am ales-o pentru experiențele noastre. În cursul anului 1954, am făcut cinci serii de experiențe: 3 serii de inoculare cu filtrat și fracții de filtrate și 2 serii de experiențe pentru studierea condițiilor de imunitate. Prin efectuarea experiențelor de imunitate am urmărit scopul să știm dacă animalele inoculate cu filtrat și fracții de filtrate, care n-au prezentat formare de tumori, rămân sau nu imune față de inocularea celulelor tumorale.

Metoda de cercetare:

Am preparat o suspensie din celule tumorale obținute din tumori de 10—15 zile. Am presupus că agentul filtrabil tumoral se găsește în celule și poate fi pus în evidență numai în cazul în care îl eliberăm printr-o metodă oarecare din celulele respective. În acest scop am utilizat metoda de congelare fracționată, folosită de *Putnoky* și colaboratorii. Congelarea am făcut-o cu un amestec congelant de CaCl_2 (1 parte gheață + 5 părți CaCl_2 crist.) la -50°C , sau cu un alt amestec de CNa +gheață la -21°C . Am repetat congelarea de trei ori, în modul următor: Durata I-ei congelări a fost de 16 ore, după care am retopit suspensia de tumoare la temperatura termostatului. Durata congelării a II-a a fost de trei ore și după decongelare a urmat o a treia congelare, tot de trei ore. După a treia congelare materialul decongelat l-am centrifugat timp de 20 min. la 4500 ture/min. și am folosit lichidul supernatant.

Prin decongelarea rapidă a materialului congelat, se distrug celulele și astfel agenții filtrabili se pot pune în libertate. Literatura de specialitate arată că temperatura optimă de congelare a fibrelor musculare este -35 — 60°C , temperatura la care îngheață toată cantitatea de lichid din celule. Congelarea rapidă în interiorul fibrelor musculare produce mici cristale de gheață, în timp ce congelarea lentă face ca apa celulelor musculare să înghețe în cristale mari, producând totodată leziunea membranelor celulare. Sub acțiunea decongelării rapide, lezarea celulelor se produce în amândouă cazurile. Deosebirea între cele două congelări ce se efectuează la temperaturi diferite este aceea că în cazul congelării rapide, coloizii celulari suferă leziuni ireversibile. După cele trei congelări, decongelări și centrifugări, am obținut un lichid supernatant opalescent, de culoare galbenă-brună. Acest lichid l-am filtrat prin filtru Seitz reținător de bacterii. Filtratul l-am precipitat cu $\text{Al}(\text{OH})_3$ și $\text{SO}_4/\text{NH}_4/2$ după un procent determinat la fiecare serie de experiențe, apoi l-am supus la electro-dializă și l-am inoculat subcutan la șoareci. De fiecare dată, grupele de control le-am inoculat cu o suspensie de celule tumorale 1:4. Animalele le-am ținut sub observație timp de 117, 153 și 139 de zile. Animalele care n-au prezentat tumori în tot cursul observației noastre, le-am utilizat pentru cercetări imunologice în vederea examinării stării de nereceptivitate față de celulele tumorale.

*Seria I-a de experiențe
Tulpina de tumoare M. I. pasaj 71.*

Grupa	Nr-ul animalelor inoculate	Metoda de tratare	Rezultatul
I.	10	Controlul seriei de experiențe s. c. din suspensia de celule tumorale 1 : 4.	0,5 cc. După 9 zile s-a produs tumoare la 9 animale. 90%
II.	10	0,5 cc. din sedimentul suspensiei de celule tumorale 1 : 4. congelat la -50°C și decongelat de trei ori.	După 12 zile s-a produs tumoare la 2 animale. 20%
III.	10	1 cc. de lichid supernatant filtrat prin filtru Seitz.	După 117 zile nu s-a observat nici o tumoare.
IV.	10	1. cc. de electrodiализat al precipitatului de filtrat obținut cu 0,4% $\text{Al}(\text{OH})_3$..
V.	10	1 cc. de electrodiализat al precipitatului de filtrat obținut cu 10% $\text{Al}(\text{OH})_3$..
VI.	10	1 cc. de electrodiализat al precipitatului de filtrat obținut cu 25% $\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$..

Din datele cuprinse în tabel reiese că n-am reușit să obținem tumori, nici prin inocularea filtratului, nici prin inocularea fracțiilor de filtrat. Deoarece la animalele inoculate cu sedimentul suspensiei de tumoare congelată am obținut un rezultat pozitiv de 20%, am presupus că factorul etiologic al tumorii ar fi prezent în acest sediment și în a II-a serie de experiențe l-am examinat și pe acesta. În a II-a serie de experiențe congelarea am efectuat-o la -21°C .

*Seria II-a de experiențe
Tulpina de tumoare M. I. pasaj 71 a.*

Grupa	Nr-ul animalelor inoculate	Metoda de tratare	Rezultatul
I.	10	Controlul seriei de experiențe s. c. din suspensia de celule tumorale 1 : 4.	Dupa 9 zile s-a produs tumoare la 9 animale. 90%
II.	10	5 cc. din sedimentul suspensiei de celule tumorale 1 : 4. congelat la -21°C și decongelat de 3 ori.	După 153 zile nu s-a observat nici o tumoare.
III.	10	1 cc. de lichid supernatant filtrat prin filtru Seitz.	..
IV.	10	1 cc. de electrodiализat al precipitatului de filtrat obținut cu 10% $\text{Al}(\text{OH})_3$..
V.	10	Sedimentul emulsiei tumorale congelate după resuspendare, recongelare, centrifugare și filtrare prin filtru Seitz. 1 cc. din electrodiализatul precipitatului din filtrat obținut prin $\text{Al}(\text{OH})_3$, 10%	După 153 zile nu s-a observat nici o tumoare.

Deoarece nici în a II-a serie de experiențe n-am constatat formarea tumorilor, am încercat, în limita posibilităților noastre, să urmărim metoda folosită de *Pulnoky* și să demonstrăm transplantabilitatea tulpinii de tumoare examinată prin filtratul obținut prin filtre Seitz EKST, Chamberland L₃ și Chamberland L₅.

Seria III-a de experiențe.
Tulpina de tumoare M 1. pasaj 74/a.

Grupa	Nr-ul animalelor inoculate	Metoda de tratare	Rezultatul
I.	8	Controlul seriei de experiențe 0,5 cc de suspensie de celule tumorale 1:4.	După 13 zile s-a format tumoare la 7 animale. 87%
II.	8	0,5 cc. de sediment de suspensie de celule tumorale congelată la -21° C timp de 72 ore.	După 13 zile s-a format tumoare la 1 animal. 12%
III.	8	1 cc. de lichid supernatant filtrat prin filtru Seitz.	După 139 zile nu s-a format tumoare.
IV.	8	1 cc. de lichid supernatant filtrat prin filtru Chamberland L ₃	..
V.	8	1 cc. de lichid supernatant filtrat prin filtru Chamberland L ₅	..

Am examinat în două serii de experiențe starea de nereceptivitate a animalelor rămase în viață, după efectuarea a trei serii de experiențe, în cursul cărora nu a apărut nici o tumoare. Aceasta am făcut-o în scopul de a constata modul în care se comportă animalele tratate în diferite feluri, față de apariția celulelor tumorale. Dintre cele două serii de experiențe imunologice nu poate fi apreciată decît una, deoarece animalele inoculate cu ajutorul cărora s-a efectuat a doua serie au murit înainte de formarea tumorilor, în urma unei epidemii de casă provocată de *Salmonella*.

Seria I-a de experiențe pentru controlul imunității

Grupa	Nr.-ul animalelor inoculate	Grupa căreia îi aparțin animalele?
I.	8	Animale de control
II.	3	Animalele inoc. cu emulsie de tumoare; au rămas rezistente.
III.	10	Animalele tratate cu emulsie congelată; au rămas rezistente.
IV.	10	Animalele inoc. cu filtrat prin filtru Seitz a suspensiei de celule tumorale congelate; au rămas rezistente.
V.	8	Animale tratate cu electrodiolizatul precipitatului din filtratul obținut cu 0,4% Al/OH ₃ ; au rămas rezistente.
VI.	10	Animalele inoc. cu electrodiolizatul precipitatului de filtrat, obținut cu 25% SO ₄ /NH ₄ ; au rămas rezistente.
VII.	8	Animalele inoc cu electrodiolizatul precipitatului de filtrat, obținut cu 10% Al/OH ₃ ; au rămas rezistente.
VIII.	20	Animalele tratate cu tumoare spontană, au rămas rezistente.

La aprecierea experiențelor de imunitate am folosit în cursul experiențelor aceeași metodă ca și *Putnoky* și colaboratorii. Rezultatul obținut l-am exprimat printr-o fracție, al cărei numărător arată numărul animalelor îmbolnăvite de tumoare, iar numitorul fracției arată numărul total al animalelor inoculate. Aceste fracții le-am raportat una la alta. Am considerat ca rezultat negativ, dacă raportul obținut a fost 1:1,0—1:1,29 (0,29% diferență). Am considerat că rezultatul e slab pozitiv (+) dacă raportul a fost 1:1,30—1:1,49 (diferență 30—49%); rezultat pozitiv (++) dacă raportul obținut a fost 1:1,50—1:1,99 (diferență 50—99%) și intens pozitiv (+++) dacă raportul obținut a fost 1:2 sau chiar mai mult (diferență 100%). Comunicăm rezultatele experiențelor noastre în tabelul următor:

Grupa	Nr.-ul animalelor inoculate	Sucombate înaintate de timp	Animale sucombate cu tumori	Nu s-a dezvoltat tumoare	Procentul de pozitivitate	Rezultatul
I.	8	—	7	1		
II.	3	—	1	2	1/3:7/8=1:2.6	+++
III.	10	—	7	3	7/10:7/8=1:1.2	—
IV.	10	2	2	6	2/10:7/8=1:4.4	+++
V.	8	—	3	5	3/8:7/8=1:2.3	+++
VI.	10	—	5	5	5/10:7,8=1:1.7	++
VII.	8	—	3	5	3/8:7/8=1:2.3	+++
VIII.	20	—	10	10	10/20:7,8=1:1.6	++

După cum se vede, rezistența cea mai mare față de reinocularea țesutului tumoral au prezentat-o animalele inoculate cu emulsie de tumoare, cu filtratul obținut prin filtratul Seitz, cu electrodiализatul precipitatului obținut cu Al/OH₃ 0,4% și 10%. Am constatat o rezistență mai slabă la animalele inoculate cu electrodiализatul precipitatului obținut cu sulfat de amoniu 25% și la cele inoculate în prealabil cu tumori spontane, față de care au rămas rezistente. N-au prezentat nici o rezistență față de reinocularea țesutului tumoral, animalele inoculate în prealabil cu sedimentul emulsiei tumorale, care după această inoculare, au rămas sănătoase. Faptul că cea mai mare rezistență au avut-o animalele inoculate cu filtratul țesutului tumoral congelat (1:4,4), după părerea noastră, se explică prin prezența agentului patogen, în filtrat, într-o cantitate mai ridicată. *Zilber* și *Andrewes* afirmă că sub acțiunea agentului filtrabil, în organism se produc anticorpi, care dau imunitate numai față de virusul propriu zis.

Ar fi greșit să interpretăm în mod absolut negativ cele trei serii de experiențe efectuate pentru examinarea cancerigenă a filtratelor și a fracțiilor de filtrate de suspensii tumorale. Multe date din literatură arată că nu s-a reușit transplantarea tumorilor prin filtrate, nici în cazurile în care s-a confirmat etiologia virotică. *Zilber* afirmă că în multe cazuri în succesul constatat la transplantarea tumorilor prin filtrate, se explică prin faptul că nu se aleg tumori în vîrstă corespunzătoare și animalele nu sînt observate timp destul de îndelungat. În cursul unei serii de experiențe efectuate de el în anul 1945, acest autor a observat că virusul poate fi pus în evidență în faza de dezvoltare precoce a tumorilor, iar evidențierea de mai tîrziu nu e posibilă, deoarece virusul trece într-o formă „mascată”. În

această fază, virusul își pierde acțiunea patogenă, dar își păstrează acțiunea antigenică. Așa de exemplu, virusul papilomei iepurilor nu poate fi pus în evidență în faza de malignizare a neoplasmului. (*Morozov și Baidacova*). *Putnoky* e de părere că în stadiul lor de formă mascată, cînd nu mai pot fi puse în evidență virusurile își păstrează proprietățile antigenice și provoacă elaborarea anticorpilor, care se pot găsi prin diferite metode serologice. În experiențele noastre, insuccesul de provocare a tumorilor se explică, — în afară de cele de mai sus, — și prin faptul că adenocarcinul de șoarece M. I. folosit în experiențele noastre ca avînd un procentaj ridicat de pozitivitate, în cazul inoculărilor prin suspensii celulare, a fost o tulpină îmbătrînită (pasaj 74).

Se poate întîmpla ca în cursul congelării fracționate să se fi diminuat de asemenea patogenitatea agenților filtrabili, și astfel nu s-ar fi putut provoca tumoare decît după o observație îndelungată.

Rezumat

Am examinat în trei serii de experiențe transplantabilitatea tumorilor de șoarece M. I. prin filtrat și fracții de filtrat. Am examinat în două serii de experiențe starea de imunitate a animalelor rămase rezistente față de fracții de filtrate, suspensie de celule tumorale și tumori spontane, la reinocularea țesutului tumoral.

În cursul experiențelor noastre n-am reușit să provocăm formarea tumorilor prin inocularea filtratului și fracțiilor de filtrate, însă în cursul experiențelor de imunitate antitumorale am constatat că prin tratarea suspensiei de țesut tumoral s-a diminuat acțiunea patogenă a agentului filtrabil, fără ca acțiunea antigenică să fie prin nimic stingherită.

Primită la redacție la: 11 iulie 1955.

Bibliografia:

1. *Putnoky Gy., Kerestély J., Hoffmann E.*: Aetiology of our transplantable mouse tumors. Acta phys. Acad. Scient. hungaricae. 1953. Tom. IV. 425; 2. *Putnoky Gy., Kerestély J., Gyergyay F., Hoffmann E.*: Immunological conditions of our transplantable mouse carcinoma strain Acta phys. Acad. Scient. hungaricae. 1953. Tom. IV. 409; 3. *Putnoky Gy., Kerestély J., Hoffmann E.*: Spontan állati daganatok és azok átolthatósága. Prezentat la 30. IV. 1952. la ședința Societății Științelor med. R. P. R. Filiala Tg.-Mureș; 4. *Putnoky Gy., Kerestély J., Hoffmann E.*: Átoltható állati daganattörzsekkel végzett keresztezett immunitástani vizsgálatok eredményei. Prezentat la 30. IV. 1952. la ședința Societății Științelor Medicale R. P. R. Filiala Tg.-Mureș; 5. *L. A. Zilber*: Probleme fundamentale a etiopatogenezei tumorilor maligne. An. Rom.—Sovietice. Med. Gen. Nr. 1. 1954. p. 52; 6. *L. A. Zilber*: Despre antigenele specifice ale tumorilor. Prob. oncologiei 1951. pag. 229; 7. *L. A. Zilber*: Etiopatologia cancerului în lumina unor experiențe de imunologie. Voprosi Neurochirurgii Nr. 1/1952; 8. *L. M. Șabad*: Critica unor concepții asupra apariției tumorilor. Probl. de oncologie. 1949. Nr. 12. p. 5; 9. *N.N. Petrov*: Contribuțiunii la concepția genezei cancerului. Hirurgia Nr. 9 1949. p. 12; 10. *M. M. Neviabolski*: Ultrafiltrabilitatea cancerului și sarcomului mamiferelor. Buł. Exp. Biologiei i. Med. Nr. 9/1948. p. 3; 11. *J. M. Neiman*: Date cu privire la izolarea factorului de malignitate ce poate fi extras din celula canceroasă. Arhiv. Patologiei Nr. 2, 1951; 12. *V. M. Lumpova*: Originea celulelor sarcomatoase induse din substanță vie necelulară. Arhiv Patologiei Nr. 5/1952.

К ВОПРОСУ О ПЕРЕВИВАЕМОСТИ И ИММУНИТЕТЕ БЕСКЛЕТОЧНОГО ФИЛЬТРАТА И ФРАКЦИЙ ФИЛЬТРАТА МЫШИНЫХ ОПУХОЛЕЙ М. I.

Э. Гофман и И. Ласло

Для изучения перевиваемости мышинных опухолей М, фильтратом и фракциями фильтрата были поставлены опыты в трех сериях. Во время опытов изучался иммунитет к введению опухолевых клеток у тех животных, у которых раньше образование опухоли не наблюдалось.

Нам не удалось вызвать опухоли при помощи бесклеточного фильтрата и его фракций, но было установлено уменьшение патогенной способности находящегося в опухолевой суспензии фильтруемого агента без ослабления его антигенных свойств.

CONDITIONS DE TRANSPLANTABILITÉ ET D'IMMUNITÉ DU FILTRAT ACÉLLULAIRE ET DES FRACTIONS DE FILTRAT DES SOUCHES DE TUMEUR DE SOURIS M. I.

Hoffman E. et László J.

Nous avons examiné en 3 séries d'expériences la transplantabilité des tumeurs de souris M. I. par filtrat et fractions de filtrat. Nous avons examiné en 2 séries d'expériences l'état d'immunité des animaux résistant aux fractions de filtrat, suspensions de cellules tumorales et tumeurs spontanées contre la réinoculation du tissu tumoral.

Au cours de nos expériences nous n'avons pas réussi à prévenir la formation des tumeurs par l'inoculation du filtrat et des fractions de filtrat mais nous avons constaté que le traitement de la suspension de tissu tumoral par certaines méthodes a diminué l'action pathogène de l'agent filtrant sans diminuer pour cela son action antigénique