

Catedra de anatomie patologică a I.M.F. (cond.: conf. F. Gyergyay, candidat în științe medicale) și Prosectura Spitalului clinic (cond.: L. Schuller, medic primar)  
din Tîrgu-Mureș

## ACȚIUNEA INHIBITORILOR METABOLISMULUI GLUCIDIC ASUPRA PROLIFERĂRII CELULARE NORMALE ȘI TUMORALE

F. Gyergyay, L. Vincze, A. Antalffy, O. Lakatos, L. Nüzsl, L. Schuller\*

Una dintre problemele principale ale oncologiei este studierea metabolismului celulelor tumorale. Studii teoretice și experimentale încearcă să pună în evidență diferențele dintre metabolismul celei netumorale și cel al celei tumorale. Numeroși cercetători (Warburg, Euler, Janovszki) susțin, pe baza experiențelor efectuate, că metabolismul glucidic și producerea de energie diferă în celulele tumorale față de celule normale.

Dacă în metabolismul celular, și în special în metabolismul celei canceroase, glucidele ocupă un loc central, modificarea acestui metabolism trebuie să se reflecte atât în ritmul creșterii tumorale, cât și în activitatea mitotică.

Plecînd de la aceste considerente, colectivul Catedrei de anatomie patologică a studiat legăturile între proliferarea și diviziunea celulară netumorală și tumorală, pe de o parte, și metabolismul glucidic pe de alta.

### Descrierea experiențelor

În cursul experiențelor am influențat metabolismul glucidic prin următorii inhibitori ai fosforilării: 2,6 — dinitrofenol, cianură de potasiu, fluorură de sodiu și acid monoiodacetic.

2,6-dinitrofenolul (DNP) provoacă disocierea procesului de fosforilare oxidativă, inhibînd transmiterea fosfatului. Rezerva energetică a țesuturilor scade. Respirația prezintă o creștere compensatoare, care nu este însă utilă, deoarece energia formată prin arderea rapidă a substanțelor nutritive se pierde sub formă de căldură și nu se formează legături de fosfat macroergic. Reacțiile din cercul Krebs-Szent-Györgyi sînt inhibitate.

Cianura de potasiu (KCN) inhibează enzimele care conțin fier trivalent și prin inhibarea sistemului citocromic împiedică formarea oxidativă a energiei.

Fluorura de sodiu (NaF) este activă prin ionul de fluor. Dintre enzimele de fermentație, enolaza este cea mai sensibilă, deoarece ionul de magneziu necesar activității ei este legat de fluor în formă de fosfat-magneziu-fluor.

Acidul monoiodacetic (MJA) oprește fermentația; transformarea fosfatului-3-glicerolaldehidei și a difosfatului 1,3 acidului glicerolic nu se produce. Prin inhibarea fumarazei oprește cercul citratic.

În cursul experiențelor am urmărit să constatăm în ce măsură inhibitorii metabolismului glucidic, menționați mai sus, influențează regenerarea fiziologică (în mucoasa intestinală și în dinți) regenerarea patologică (vindecarea plăgilor și regenerarea hepatică), prinderea și creșterea tumorilor, activitatea mitotică din tumori.

### 1. Acțiunea inhibitorilor fermentativi asupra activității mitotice din epiteliul intestinelui subțire

La animalele adulte înmulțirea celulară se observă numai în teritorii bine determinate. Astfel de centri ai proliferării se găsesc și în glandele Liberkuhn ale intestinului subțire. Am stabilit numărul mitozelor pe o secțiune transversală din duoden.

\* La efectuarea experiențelor au mai contribuit studenții F. Fülöp, I. Jagamas, F. Szekely și E. Vass.

Fiecare substanță a fost experimentată pe 50 de șoareci, împărțiți în loturi câte 10. Loturile au fost sacrificate la 0,5, 1, 3 și 6 ore după administrarea inhibitorilor. 10 șoareci nu au fost supuși nici unui tratament și au format lotul de martori. Rezultatele le-am studiat statistic după metoda Student.

### Rezultate

După administrarea de KCN am observat o inhibiție imediată a activității mitotice, care și-a atins punctul maxim după 1/2 și 1 oră. La 6 ore nu am mai observat diferență. În cazul DNP am pus în evidență numai o ușoară modificare, manifestată prin inhibiție mitotică după o oră. După trei ore nu am mai observat această acțiune. NaF a avut un efect tot inhibitor, pe care nu l-am observat la lotul sacrificat după 0,5 ore; după o oră și-a atins maximum, menținut și după 6 ore.

Spre deosebire de aceste substanțe, MJA a avut o acțiune diferită; după 0,5 ore nu am găsit modificarea activității mitotice. După o oră am observat dublarea numărului mitozelor. Această acțiune a avut o durată scurtă și a dispărut după 3 ore.

### 2. Acțiunea inhibitorilor fermentativi asupra ritmului de creștere a dinților incisivi la șobolani

Cercetările au fost efectuate pe șobolani. Pe dinții incisivi superiori la marginea gingiei am făcut un semn utilizând o freză de tip dentar. Am măsurat distanțele dintre semnele făcute la intervale de o săptămână și le-am notat pe hirtie milimetrică. Am lucrat cu loturi formate din 10 șobolani. La evaluarea rezultatelor am calculat media creșterii săptămânale, prezentând rezultatele în procente față de seria martoră.

### Rezultate

După primele măsurători ritmul de creștere a dinților s-a accelerat și acest fenomen poate fi pus în legătură cu iritația provocată de șlefuirea dinților. După administrarea substanțelor inhibitoare ritmul de creștere a dinților a scăzut față de martori.

KCN a avut cel mai pronunțat efect inhibitor. Înainte de administrare ritmul de creștere a fost de 2,20 mm, iar după administrare de KCN 1,50 mm, ceea ce reprezintă o inhibiție de 31.81%.

Celelalte trei substanțe au avut de asemenea o acțiune inhibitoare, după cum urmează; DNP 20%, NaF 25,33%, MJA 29,52%.

### 3. Acțiunea inhibitorilor fermentației asupra regenerării ficatului.

Experiențele au fost efectuate pe șobolani albi. Am executat hepatectomie parțială după metoda lui *Enrierson* și *Higgins*, iar gradul de regenerare a fost apreciat în funcție de greutatea ficatului, utilizând formula lui *Cansanelli*. Am controlat regenerarea ficatului la 4, 9, 16 și 28 zile după hepatectomie, în comparație cu grupa de martori.

### Rezultate

Am putut constata că inhibitorii fermentației administrați au avut o acțiune retardantă asupra regenerării hepatice. Inhibiția a fost mai pronunțată în a 4-a zi, dar s-a observat într-o măsură mai redusă și după 9 și 16 zile. După 28 zile, la toate animalele regenerarea hepatică a fost completă, cu excepția grupei căreia i s-a administrat NaF, ceea ce înseamnă că această substanță a exercitat un efect de durată.

Am urmărit și numărul celulelor binucleate, ca semn al regenerării. Astfel am putut constata că la toate loturile tratate numărul celulelor binucleate a scăzut față de martori. În primele zile MJA a avut o acțiune mai pronunțată, iar la 16,28 KCN a fost mai activă.

### 4. Acțiunea inhibitorilor fermentației asupra vindecării plăgilor.

Cercetările au fost efectuate pe șoareci albi. Pe pielea dorsala am făcut cu un perforator o gaură având diametrul de 0,5 cm. Astfel am obținut o rană de o suprafață

FR. GYERGYAY ȘI COLAB.: ACȚIUNEA INHIBITORILOR METABOLISMULUI GLUCIDIC ASUPRA PROLIFERĂRII CELULARE NORMALE ȘI TUMORALE

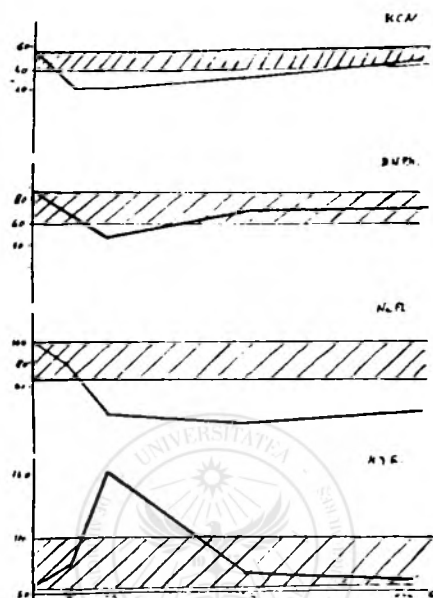


Fig. nr. 1. - Acțiunea inhibitorilor metabolismului glucidic asupra activității mitotice din epiteliul intestinal la șoareci. Modificarea numărului de mitoze în primele 6 ore după administrarea medicamentelor. Teritoriul liniat corespunde deviației standard a marilor

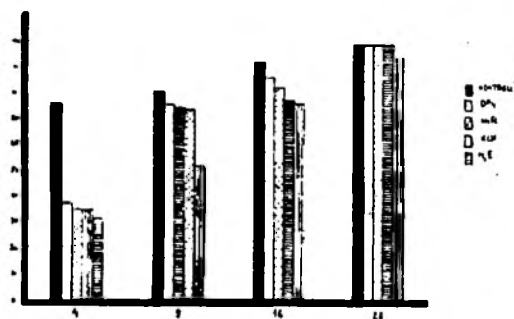


Fig. nr. 2. - Acțiunea inhibitorilor metabolismului glucidic asupra regenerării ficatului la 4, 9, 16 și 28 zile după o hepatectomie parțială

FR. GYERGYAY ȘI COLAB.: ACȚIUNEA INHIBITORILOR METABOLISMULUI GLUCIDIC ASUPRA PROLIFERĂRII CELULARE NORMALE ȘI TUMORALE

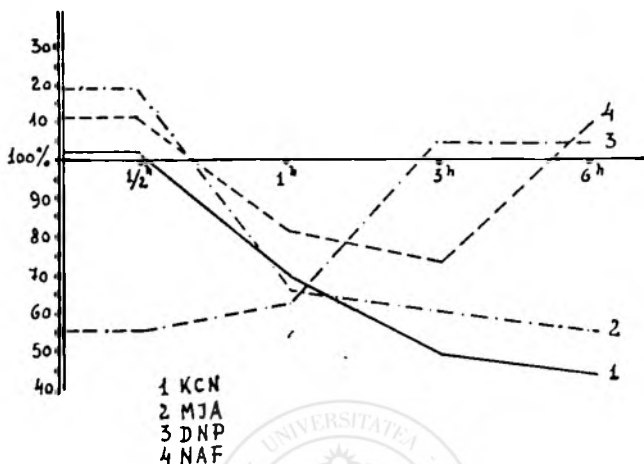


Fig. nr. 3. - Acțiunea inhibitorilor metabolismului glucidic asupra activității mitotice din carcinomul Ehrlich în primele 6 ore după administrarea medicamentelor

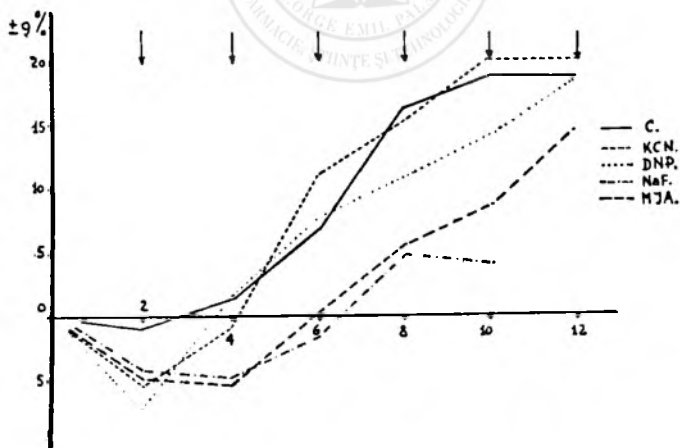


Fig. nr. 4. - Acțiunea inhibitorilor metabolismului glucidic asupra creșterii carcinomului ascitic Ehrlich. Curbele corespund variațiilor ponderale ale șoarecilor în primele 12 zile după grefarea tumorii

de 0,19 cm<sup>2</sup>. Baza rănii a fost formată de fascia și musculatura dorsală. La animalele marlore vindecarea completă s-a produs după 12—14 zile; am utilizat pansament umed, iar după 10—11 zile am lăsat suprafața ranilor să se usuce.

Am început administrarea substanțelor inhibitoare cu 15 minute înainte de a perfora pielea și am repetat-o a doua zi până la terminarea experiențelor. Am făcut examenul histologic după 12,30 de minute 1, 3, 24 ore și după 4, 5, 7, 9, 11 și 13 zile de la intervenție.

### Rezultate

La prima grupă am administrat substanțele inhibitoare în doze relativ mari, fapt care a provocat moartea multor animale. În această grupă numai NaF a exercitat o acțiune retardantă, față de martori. În a doua serie, utilizând doze mai adecvate, acest efect inhibitor a fost mai puțin pronunțat fiind evident în cazul NaF și KCN care au întârziat vindecarea cu o zi. La animalele tratate reacția leucocitară s-a prezentat și a dispărut mai repede. La fel și reacția fibroblastică a prezentat o evoluție mai rapidă.

#### 5. Acțiunea inhibitorilor fermentației asupra activității mitotice din carcinomul Ehrlich

Experiențele au fost efectuate în patru serii, în total pe 160 șoareci albi. Am administrat subcutanat o suspensie de carcinom ascitic Ehrlich, diluată 1:4 cu ser fiziologic. La 11 zile, când tumorile au fost bine palpabile, șoarecilor, exceptând martorii, li s-au administrat substanțele inhibitoare subcutanat în regiunea tumorii. Sacrificarea s-a făcut după 0,5, 1, 3 și 6 ore. Am preparat secțiuni histologice din tumori și am numărat mitotozele. Activitatea mitotică am exprimat-o folosind coeficientul mitotic propus de *Kvanenko* și valoarea procentuală a numărului de mitoze raportat la grupa de martori.

### Rezultate

KCN și-a exercitat acțiunea după o oră; acest efect a persistat și după 3 și 6 ore sub forma unei inhibiții nete. La animalele tratate cu MJA numărul mitozelor a crescut la început, apoi a scăzut și această acțiune inhibitivă a persistat și după 6 ore. NaF a avut o acțiune inhibitoare la 1 și 3 ore, iar după 6 ore am observat o creștere a activității mitotice. DNP a exercitat o acțiune inhibitivă la 0,5 ore, care a dispărut repede, iar după 6 ore am observat o creștere a numărului de mitoze

#### 6. Acțiunea inhibitorilor fermentației asupra prinderii și creșterii carcinomului ascitic Ehrlich

Cercetările noastre au fost efectuate în patru serii, în total pe 212 șoareci. Atât carcinomul ascitic, cit și substanțele inhibitoare le-am administrat pe cale intraperitoneală. În a doua parte a experiențelor am urmărit și concentrația celulelor tumorale din lichidul ascitic. Pentru identificarea celulelor neviabile am colorat lichidul ascitic cu o soluție de 0,5% de nigrozină și am numărat celulele în camera Buerker.

### Rezultate

KCN și DNP au exercitat o acțiune retardantă asupra prinderii tumorii ascitice, fără să influențeze însă ritmul de creștere a ei. În cazul MJA am observat o inhibiție a creșterii tumorii. La toate grupele NaF a avut efectul cel mai evident. În această serie de experiențe în a 10-a zi de tratament am numărat celulele înainte cu 3 ore și după 3 ore de la administrarea substanțelor inhibitoare.

În experiențele noastre fiecare substanță inhibitoare a dus la scăderea numărului de celule. Acest fenomen poate fi explicat prin aceiași factori care provoacă inhibiția în creșterea tumorii. Acțiunea cea mai pronunțată a fost cauzată de NaF.

Am observat diferențe pronunțate în privința numărului de celule neviabile. După administrare de NaF și KCN, numărul celulelor a scăzut, iar după MJA și

DNP a crescut. Această acțiune a fost trecătoare, deoarece la 3 ore după administrarea substanțelor inhibitoare am observat creșterea evidentă a numărului celulelor moarte (NaF 33,2% — 55,3%; DNP 14,3% — 28,1%; MJA 21,03% — 39,7%). După ce am administrat KCN nu am observat creșterea numărului de celule moarte.

Comparând rezultatele experiențelor de mai sus, putem constata următoarele:

KCN a inhibat în mod evident activitatea mitotică din epitelul intestinal; la fel de evidentă a fost și acțiunea asupra creșterii dinților. La vindecarea rănilor și regenerarea hepatică, acțiunea nu a fost atât de evidentă și nu s-a deosebit esențial de efectul celorlalte substanțe utilizate. KCN a avut o acțiune negativă asupra prinderii tumorilor, însă nu a influențat creșterea lor. Acțiunea asupra activității mitotice din tumori nu s-a deosebit de acțiunea exercitată asupra țesuturilor normale; ea a apărut la 1/2 oră după începerea experiențelor și a fost de durată.

NaF a avut o acțiune inhibitoare asupra activității mitotice din epitelul intestinal; a apărut puțin mai târziu, dar a fost de durată. Ritmul de creștere a dinților incisivi a scăzut. În privința regenerării hepatice, NaF a exercitat efectul cel mai evident, prezentând o inhibiție și după 28 zile. La vindecarea plăgilor, NaF a avut o acțiune retardantă de 1—2 zile. A inhibat cel mai evident prinderea și creșterea tumorii ascitice. În activitatea mitotică din tumori am observat numai o acțiune pasajeră, iar după 6 ore mitozele s-au intensificat. Pe baza acestor acțiuni exercitate asupra mucoasei intestinale, asupra regenerării hepatice și vindecării plăgilor, putem conchide că acțiunea NaF care se desfășoară prin inactivarea ionilor de fosfați este de durată.

Acțiunea DNP asupra epitelului normal din intestine este de scurtă durată. Tot această substanță a avut acțiunea cea mai redusă asupra creșterii dinților incisivi. Ea nu a influențat vindecarea rănilor, și a întârziat într-o măsură foarte mică regenerarea hepatică. DNP a întârziat prinderea tumorilor, dar nu a influențat creșterea lor. Activitatea mitotică din tumori a scăzut în prima 1/2 oră, dar mai târziu s-a normalizat, sau chiar a crescut.

MJA a cauzat o creștere a activității mitotice în primele 2 ore în epitelul intestinal. Această creștere a fost numai aparentă, deoarece studiind diferitele faze ale mitozei am putut constata evoluția mai lentă a mitozei. Astfel MJA a inhibat desfășurarea mitozei. Acțiunea exercitată asupra creșterii dinților a fost mai evidentă și aproape identică cu aceea a KCN. Acțiunea exercitată asupra regenerării ficatului a fost mai evidentă numai în primele 4 zile, când a depășit efectul celorlalte substanțe. Nu am observat deosebiri în ceea ce privește vindecarea plăgilor. În caz de tumori MJA a dus la creșterea pasajeră a numărului de mitoze, care mai târziu a scăzut și a fost observată chiar după 6 ore. MJA a întârziat atât prinderea cât și creșterea tumorii ascitice.

Comparând activitatea mitotică observată în țesuturile normale și tumorale, constatăm că în ambele cazuri cele patru substanțe fermento-inhibitoare au avut același efect, împiedicând această activitate. În țesuturile normale însă, această activitate a rămas întotdeauna sub nivelul celei observate la martori. În tumori, după dispariția acțiunii inhibitoare, am putut observa o creștere reactivă a activității mitotice.

În concluzie, putem constata că NaF și KCN au exercitat acțiunea inhibitoare cea mai evidentă, atât asupra creșterii tumorale cât și a regenerării. După MJA și NDP această acțiune nu a fost atât de pronunțată.

În cursul experiențelor noastre regenerarea fiziologică, patologică și creșterea tumorală au prezentat modificări identice sub acțiunea substanțelor administrate. Și această observație pledează pentru ipoteza că nu există diferențe calitative în ceea ce privește metabolismul țesuturilor normale și tumorale.

*So-it la redacție: 18 iunie 1962.*