

CERCETĂRI PRIVITOARE LA EFECTUL ADJUVANTULUI FREUND ASUPRA SUBSTANȚELOR MUCOPOLIZAHARIDICE DECELABILE ÎN TIMUSUL ȘI ÎN SPLINA ȘOARECILOR NOU-NĂSCUȚI

Agneta Szövérfy, G. L. Kemény

Conform datelor din literatură, substanțele PAS pozitive apar în timusul embrionilor mai întâi în celulele epiteliale care formează scheletul reticular al organului. Aceste substanțe trec în spațiul intercelular dar apar și în citoplasma timocitelor. Substanța PAS pozitivă nu este un glicogen, dar nici un mucopolizaharid (MPZ) acid, ci un MPZ neutru. Conform concepțiilor lui Csaba și colab. această substanță este înglobată de timocite, unde se transformă treptat în MPZ acid. Se poate deduce deci că apariția MPZ-elor coincide în timus reprezintă un semn de maturare a organului.

Transformarea chimică a MPZ-elor, adică sulfatarea lor progresivă în citoplasma mastocitelor, a fost descrisă de Velican și colab. (12, 13) în legătură cu mastocitele din plămâni și ganglionul limfatic. Velican susține că apariția și înmulțirea MPZ-elor acide în limfoganglioni este un semn al dezvoltării proceselor de imunitate.

Se cunoaște faptul că șoarecii nou-născuți sînt incompetenți din punct de vedere imunologic. Datele recente din literatură ne arată că timusul joacă un rol important în apariția competenței imunologice a organismului (Osboa — 10, Metcalf — 9, Taylor — 11, Messini — 8, etc.), datorită faptului că acest organ este centrul coordonator al informațiilor imunologice.

Scopul nostru a fost cercetarea MPZ-elor în timusul șoarecilor nou-născuți după injectarea adjuvantului Freund, cu scopul de a observa eventuale schimbări ale mucopolizaharidelor în cazul unei solicitări puternice a sistemului reticuloendotelial.

Material și metodă

Experiențele au fost efectuate pe 70 de șoareci albi nou-născuți. În primele 24 de ore de viață am injectat retrosternal o singură dată 0,01 ml de adjuvant Freund. [B. Phlei uscați și omoriți la o temperatură de 120°C (5 mg) într-un amestec de ulei de parafină și de Tween 80 în proporție de 8,5 : 1,5 (10 ml)]. La 1, 2, 3, 5, 7, 9, 11, 13 și 17 zile după acest tratament am sacrificat animalele, narcotizindu-le cu eter. Timusul, splina și ficatul au fost fixate în lichidul lui Carnoy timp de 25 minute la temperatura camerei. După includerea în parafină s-au efectuat secțiuni de 7 microni. Am aplicat următoarele metode histologice, respectiv histochemice: H.E., PAS, albastru alcian, albastru de toluidină [colorație metacromatică cu metoda clasică și cea forțată, preconizată de Velican (13), adică efectuată cu o soluție mai concentrată la termostat]. Odată cu șoarecii tratați am sacrificat și 70 de animale netratate care au servit drept martor. Sacrificarea și prelucrarea organelor de martori s-au efectuat în condiții similare cu ale animalelor tratate.

Rezultate

Secțiunile de timus și de splină ale animalelor tratate și ale celor martore, colorate cu H.E., nu au prezentat nici o diferență apreciabilă. Mucopolizaharidele acide, care posedă grupări carboxilice, lipsesc cu desăvîrșire din organele studiate pînă la a 10-a zi de viață (respectiv al experienței).

Utilizând albastru alcian nu am putut stabili diferențe între grupul animalelor tratate și al celor netratate.

Neputînd obține colorație metacromatică cu ajutorul procedurii clasice, am utilizat metacromazia forțată. Nici unul dintre organele recoltate la 1—4 zile de la nașterea animalelor (tratate și martore) nu a prezentat colorație metacromatică, abia la 5 zile după injectarea adjuvantului Freund au apărut primele celule în timus și în splină în ale căror citoplasmă am găsit granulații metacromatice. Incepînd cu ziua a 5-a colorația metacromatică s-a accentuat și a crescut numărul celulelor colorate (fig. 1 și 2).

Splina și timusul animalelor martore au prezentat mai puține celule cu granulații metacromatice decît organele respective ale animalelor tratate. În amîndouă grupe am găsit din ziua a 13-a și mastocite tipice în splină. Mastocitele au fost mai frecvente în splina animalelor tratate.

Reacția PAS devine pozitivă la șoarecii de 2—5 zile în citoplasma timocitelor mari în forma unor granulații fine. Tratarea secțiunilor cu amilază (salivă) n-a influențat colorația timocitelor. O dată cu înaintarea vîrstei, granulele PAS pozitive s-au înmulțit în citoplasma timocitelor și al limfocitelor splenice și s-a constatat o diferență din ce în ce mai netă între animalele tratate și cele netratate, în sensul că injectarea adjuvantului Freund a produs o creștere nu prea însemnată dar totuși apreciabilă a substanțelor PAS pozitive (fig. 3, 4, 5 și 6).

Discuții

În primele zile ale vieții lor am putut pune în evidență în timusul și în splina șoarecilor nou-născuți substanțe mucopolizaharidice numai în cantități minime. Incepînd din ziua a 5-a cantitatea mucopolizaharidelor crește treptat în timocite și în limfocitele splenice mari. Faptul că apariția reacției PAS a precedat apariția reacției metacromatice și a rămas și mai departe mai pronunțată decît aceasta din urmă, pledează în favoarea teoriei lui *Velican* (12, 13) și *Csoba* (4), potrivit căreia mucopolizaharidele acide se formează în mastocite și în timocite pe seama mucopolizaharidelor neutre. Un proces analog se desfășoară și în uroteliu, unde acidul hialuronic se produce în celulele superficiale ale epitelului pe seama glicogenului și a mucopolizaharidelor neutre (*Kemény*, 6). După ziua a 5-a reacția PAS a devenit mai intensă în timusul și în splina animalelor tratate. Cercetarea metacromaziei după o sulfatare prealabilă pledează la fel ca și reacția PAS pentru o acumulare mai intensă a mucopolizaharidelor neutre în timocitele și limfocitele mari ale animalelor tratate. Nu am găsit date în literatura de specialitate care s-ar fi ocupat de legătura între apariția mucopolizaharidelor în timus și dezvoltarea capacităților imunologice ale organismului. Faptul că aceste două fenomene merg paralel, ne sugerează că ar putea exista o oarecare legătură între ele. Observația noastră, potrivit căreia MPZ-le apar mai timpuriu în timusul animalelor tratate cu adjuvantul Freund și sînt mai abundente și în zilele următoare în timusul și în splina animalelor tratate, pledează pentru ipoteza noastră că există o legătură între sinteza MPZ-cilor în timus și apariția competenței imunologice.

Sosit la redacție: 16 octombrie 1965.

Bibliografie

1. E. CRĂCIUN, L. GEORGESCU, SMARANDA CONSTANTINESCU: Norm și pat. (1960), 3, 193; 2. CORY CH., SCH.: Press med. (1963), 70, 1371; 3. CSABA GY., TÖRÖ I., ACS T., KISS I. F.: Acta morfologica (1960), 9, 2, 178; 4. CSABA GY.: Kisérletes orvostudomány (1959), 6, 25; 5. FORD C. E., MICKLEM: Lancet (1963), 7277, 398; 6. KEMÉNY G.: Dizertație de candidat. Contribuții la problema impermeabilității epitelului de tranziție (1963) Tg.-Mureș; 7. LUPU GH., VELICAN C., COCUI M., RACOVEANU C.: Morf. norm. și pat. (1958), 3, 1, 11; 8. MESSINI M.: Lancet (1964), 7352, 180; 9. METCALF D.: Ann. N. Y. Acad. Sci.



Fig. nr. 1.: Timusul unui șoarece de 13 zile, colorat cu albastru de toluidină. Ob. 40 X, Oc. 7 X.

Fig. nr. 2.: Timusul unui șoarece de 13 zile, tratat cu adjuvant Freund. Colorație: albastru de toluidină. Colorația metacromatică a devenit mai accentuată sub acțiunea tratamentului, mai ales în timocitele mari. Ob. 40 X, Oc. 7 X.

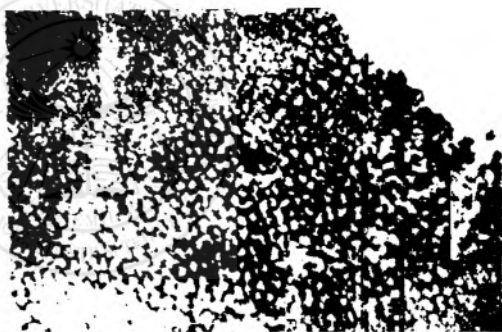


Fig. nr. 3.: Timusul unui șoarece de 7 zile, netratat. Colorație hematoxilina-PAS. Ob. 20 X, Oc. 7 X.

AGNETA SZÖVERFY, G. L. KEMÉNY: CERCETĂRI PRIVITOARE
LA EFECTUL ADJUVANTULUI FREUND...

Fig. nr. 4: Timusul unui șoarece de 7 zile, tratat cu adjuvant Freund în prima zi de viață. Cantitatea substanțelor PAS pozitive, nedigerabile cu amilază, a crescut ușor, mai ales în timocitele mari. Ob. 20 X, Oc. 7 X.



Fig. nr. 5: Timusul unui șoarece de 13 zile, martor. Colorație hematoxilină-PAS. Ob. 20 X, Oc. 7 X.

Fig. nr. 6: Timusul unui șoarece de 13 zile, tratat cu adjuvant Freund. Colorație hematoxilină-PAS. Substanțele PAS pozitive s-au înmulțit față de martor, diferența între timusurile tratate și cele netratate este mai accentuată decât la vârsta de 7 zile. Ob. 20 X, Oc. 7 X.

