

CERCETĂRI EXPERIMENTALE ASUPRA PROLIFERĂRII ȘI REGENERĂRII TISULARE.

I. Acțiunea hormonilor suprarenali asupra activității mitotice din țesuturile epiteliale normale și din tumori ascitice

Eva Gyergyay-Malatinszky, A. Lőrincz, J. Rácz

Sistemul nervos joacă un rol important în reglarea activității mitotice de la nivelul diferitelor țesuturi. Excitații acustice, luminoase, electrice și dureroase (1, 2, 20, 33, 38, 39), dar și frica animalelor (17) duce la scăderea marcată a activității mitotice din diferitele țesuturi epiteliale. Această acțiune se desfășoară în parte pe cale nervoasă (28). În acest sens pledează observațiile în care denervarea a dus la modificarea activității mitotice din organele respective *Friedenwald* și *Buschke* (14), secționind fibrele preganglionare ale ganglionului simpatic cervical superior, au constat scăderea numărului de mitoze în epitelii corneean. La fel și *Kulaghin* (21), secționind rădăcinile anterioare ale măduvei spinării de la nivelul D₁₂—S₁, a înregistrat după 10 zile o scădere semnificativă a activității mitotice din epitelii cutanate al extremității posterioare denervate. Secționarea rădăcinilor posterioare nu a modificat activitatea mitotică

Pe de altă parte *Riabuha* (33) a demonstrat că denervarea corneii nu influențează inhibiția mitotică care apare după excitații dureroase. Această observație arată că pe lângă legăturile nervoase există și un mecanism umoral prin care sistemul nervos influențează activitatea mitotică de la nivelul diferitelor țesuturi.

Friedenwald și *Buschke* (14) au presupus pentru prima oară că în inhibiția activității mitotice glanda suprarenală joacă un rol important. De fapt doze mici de adrenalină desfășoară o inhibiție pronunțată asupra activității mitotice (2, 12, 16, 17, 20). Pe de altă parte, după adrenalectomie excitația dureroasă nu mai duce la scăderea activității mitotice (2, 33). *Ghadially* și *Green* (16) au demonstrat că după adrenalectomie se constată o oarecare creștere a activității mitotice din epitelii cutanate și totodată lipsește și scăderea ei, fapt care se observă la animale normale în urma efortului fizic.

Toate aceste observații arată că glanda suprarenală joacă un rol central în reglarea activității mitotice de la nivelul diferitelor organe. Pornind de la această constatare, am studiat în lucrarea de față acțiunea hormonilor suprarenali asupra activității mitotice din diferitele țesuturi epiteliale, inclusiv tumorile ascitice.

Material și metodă

Cercetările au fost efectuate pe șoareci albi masculi, cu greutate corporală de 20—24 g, din tulpina Albino-Rosso. Animalele au fost ținute în condiții identice, cu un regim compus din făină de porumb, ovăz și lapte. Pentru a evita variațiile determinate de starea de digestie, animalele au fost ținute ultimele 20 de ore fără hrană.

Pentru determinarea activității mitotice din țesuturile epiteliale normale, șoarecii au fost sacrificați prin decapitare. Imediat după sacrificare s-au recoltat ochiul stîng, limba și prima ansă jejunală, care au fost fixate în lichidul Carnoy. Limba și intestinul au fost incluse în parafină, realizînd secțiuni transversale totale de 6 microni grosime, colorate cu galocianină-alaun cromatic. În intestin s-au numărat toate mitozele din glandele Lieberkühn de pe o secțiune transversală totală. La nivelul limbii s-au numărat mitozele din stratul bazal al epitelului de pe fața dorsală. Din cornee s-au realizat preparate integrale, colorate cu galocianină-alaun cromatic și s-au numărat formele în mitoză pe cîmpuri microscopice de-a lungul radiusului corneii de la centru pînă la periferie.

În experiențe cu tumori am utilizat tumoarea ascitică Ehrlich (EAT) și limfomul ascitic NKLy (29). Lichidul ascitic de la animale grefate cu 7—10 zile înainte, a fost diluat în proporție de 1:4 cu ser fiziologic, injectînd intraperitoneal cite 0,5 ml (în medie 5.10⁶ celule). În experiențele anterioare am demonstrat că pentru studiul activității mitotice, cea mai adecvată este tumoarea ascitică de 4—5 zile, cînd încă numărul mitozelor este relativ mare și s-a format o cantitate utilizabilă de lichid ascitic (18). Astfel, cu 4—5 zile după grefare, animalele ținute 20 de ore à jeun, au primit intraperitoneal sau subcutanat substanța studiată. După 2—4 ore șoarecii au fost sacrificați, iar cite o picătură de lichid ascitic a fost amestecată cu 4 picături de aceto-orceină. Din fiecare probă s-au numărat cite 1000 de celule, stabilind frecvența diferitelor faze ale mitozei, precum și numărul celulelor binucleate.

Rezultatele au fost evaluate statistic cu metoda „t” a lui Student.

Substanțele administrate:

Adrenalina (CIF) 0,01—0,02 mg

Noradrenalina (Arterenol Hoechst) 0,04—0,1 mg

Hidrocortizon (Spécia) 5 mg

ACTH 5 U.I.

Pentru a studia dinamica activității mitotice după administrarea de adrenalină, am sacrificat într-o serie de experiențe animale la 0,5, 1, 2, 3, 4, 5 și 6 ore după injecția unei doze de 0,01 mg.

Rezultate

Rezultatele experiențelor sînt prezentate în tabele nr. 1 și 2. Aceste rezultate pot fi rezumate astfel:

Adrenalina desfășoară o acțiune inhibitoare asupra activității mitotice din epitelul corneean, lingual, precum și din tumorile ascitice. Nu am observat o scădere semnificativă a activității mitotice din epitelul duodenal, din contră, se observă o ușoară creștere a numărului de mitoze care atinge limita semnificației la 4 ore de la administrare (vezi tabelul nr. 2). În cazul epitelului lingual se observă la 2 ore o inhibiție semnificativă cedînd locul unei creșteri ondulate a activității mitotice, care devine semnificativă la 3 și 6 ore.

Noradrenalina nu modifică activitatea mitotică a epitelului duodenal și nici a tumorilor ascitice, cauzează însă la 2 ore inhibiția semnificativă a acesteia în epitelul lingual.

Hidrocortizonul nu modifică în mod semnificativ activitatea mitotică

ACTH exercită o acțiune inhibitoare semnificativă asupra tumorilor ascitice, determinînd o scădere marcată a numărului de mitoze.

Din rezultatele experiențelor prezentate reiese că în condițiile date adrenalina, noradrenalina și ACTH-ul exercită o acțiune inhibitoare asupra activității mitotice din țesuturile epiteliale. Probabil adrenalina își desfășoară acțiunea ei prin mai multe căi. *Van Haam și Cappel* (19) au demonstrat că adrenalina inhibă creșterea culturilor de fibroblaști, însă dacă adrenalina este stabilizată cu vitamina C sau glutatone, această acțiune nu are loc (15). Astfel adrenalina nu are o acțiune mitoinhibitoare directă asupra celulelor, ci produsul ei de oxidare — adrenocromul — este substanța activă. *Lettré* (24) susține că adrenocromul este o substanță mitoinhibitoare, iar sistemul nervos simpatic își desfășoară acțiunea reglatoare tocmai prin sistemul adrenalina-adrenocrom. *Chèvremont și Chèvremont-Comhaire* (10) au demonstrat că adrenocromul — precum și izomerul lui: trihidroxil-N-metilindolul — inhibă creșterea fibroblaștilor și mioblaștilor din culturi de embrion de găină chiar într-o diluție de 1 : 20.000. Cercetările lui *Bullough* (7) arată că adrenocromul este o substanță antimitotică preprofazică, dar după *Chèvremont* (10) acționează și în metafază.

După *Lettré* (24), substanțele de mai sus acționează prin scheletul lor chinonic. Chinonul este o substanță antimitotică atât in vivo, cât și in vitro (23, 30). Cercetările în continuare au demonstrat că adrenocromul este o substanță tioloprivă, deci leagă grupul sulfhidrilic al glutatonei, în timp ce izomerul trihidroxil-N-metilindolul nu are o acțiune similară (22). Adrenocromul inhibă piruvatoxidaza și hexochinaza (27), din care cauză *Bullough* (8) vede o legătură între acțiunea antifementativă și antimitotică a acestei substanțe.

Totuși acțiunea in vitro și in vivo a adrenalinei nu este întru totul identică, deoarece și alte substanțe simpatomimetice, ca de ex. efedrina, au de asemenea o acțiune mitoinhibitoare (14), iar acțiunea ambelor substanțe poate fi inhibată de ergotamină. Aceste mecanisme sînt însă independente de sistemul adrenalina-adrenocrom. Pe de altă parte s-a demonstrat că în organism numai cantități minime de adrenalina sînt oxidate în adrenocrom.

Adrenalina influențează și metabolismul glucidic, iar prezența glucozei este indispensabilă pentru declanșarea mitozelor (8). Tot în acest sens pledează și observația că administrarea prealabilă de glucoză a putut reduce acțiunea mitoinhibitoare a adrenalinei (33).

La cobai acțiunea adrenalinei asupra metabolismului glucidic depinde de prezența vitaminei C. Este interesant că acțiunea mitoinhibitoare a adrenalinei nu are loc la cobai cu hipovitaminoză C (35). În experiențele noastre realizate pe șoareci, vitamina C s-a dovedit a avea o acțiune mitoinhibitoare asupra tumorilor ascitice, probabil prin activarea mecanismelor fiziologice de reglare (25).

Berger și Kiszely (6) au demonstrat că locul de acțiune a adrenalinei este glanda suprarenală. Dozele mari de adrenalina acționează ca un stimulant nespecific și astfel pun în acțiune sistemul hipofizo-corticosuprarenal. Numeroase efecte metabolice și hematologice ale adrenalinei exogene sînt mediate prin eliberare de ACTH și prin secreția consecutivă a hormonilor cortico-suprarenali.

Astfel este foarte probabil că acțiunea antimitotică a adrenalinei este dublă: se desfășoară atât prin adrenocrom, cât și prin mobilizare de cortizon. Primul mecanism este activ in vitro, iar ultimul are loc numai in vivo.

Încă în 1929 *Bayer* (5) a emis ipoteza că adrenalina acționează nu numai asupra simpaticului, ci și asupra funcțiilor parasimpatice, fiind deci o substanță amfotropă. Această ipoteză a fost dovedită de *Danielopolu și Marcu* (11), care au denumit acest mod de acțiune „amfomimetic”. Și această în-

Acțiunea adrenalinei, noradrenalinei, hidrocortizonului și ACTH asupra activității mitotice

Exp. nr.	Țesutul	Lotul martor		Lotul experimental		P
		n	$\bar{x} \pm s$	n	$\bar{x} \pm s$	
<i>Adrenalina 0,01 mg</i>						
	cornee 6 h	10	32,7±4,9	10	10,6±2,2	0,001—
363/63	duoden 2 h	9	169,6±22,6	10	147,04±12,3	0,4—0,3
	limbă 2 h	10	25,3±1,8	10	19,0±1,7	0,05—0,02
<i>Adrenalina 0,02 mg</i>						
322/63	EAT 4 h	10	19,7±0,26	10	10,5±0,3	0,001—
	NKLy 4 h	16	7,0±1,47	16	4,0±0,15	0,05—0,02
<i>Noradrenalina 0,1 mg</i>						
363/63	duoden 2 h	9	169,6±22,6	9	150,7±8,2	0,4—0,3
	limbă 2 h	10	25,3±1,8	9	17,8±1,6	0,02—0,01
<i>Noradrenalina 0,04 mg</i>						
360/63	EAT 3 h	10	7,7±0,26	10	7,9±0,25	—0,9
	NKLy 3 h	10	9,5±0,22	10	9,4±0,3	—0,9
<i>Hidrocortizon 5 mg</i>						
342/63	EAT 4 h	16	7,0±1,47	9	4,8±1,1	0,4—0,3
360/63	EAT 3 h	14	7,9±1,0	14	7,8±1	—0,9
382/64	NKLy 2 h	10	5,2±0,6	10	5,2±0,5	1
<i>ACTH 5 u.i.</i>						
360/63	EAT 3 h	14	7,9±1,0	14	4,46±0,63	0,001—
382/64	NKLy 2 h	10	5,2±0,6	10	2,4±0,3	0,001—

Tabelul nr. 2.

Dinamica activității mitotice a epitelului duodenal și lingual după administrare de 0,01 mg de adrenalină (media a cîte 5 șoareci)

Duoden

Ore după administrare	Lotul martor $\bar{x} \pm s$	Lotul experimental $\bar{x} \pm s$	P
0,5	228,8±24,3	332,2±25,2	0,02—0,01
1	220,6±19,5	236,6±20	0,7—0,6
2	217,6±28,6	233,2±23,8	0,7—0,6
3	178,8±12,3	212,0±23,6	0,2—0,1
4	123,6±11,5	183,2±21,7	0,05—0,02
5	193,8±21,4	256,0±24,3	0,1—0,5
6	176,8±18,3	224,0±13,5	0,1—0,5

Limba

0,5	58,2±4,7	52,6±7,4	0,7—0,6
1	58,8±2	28,8±4,8	0,001—
2	48,4±5,9	34,6±2,9	0,6—0,5
3	38,6±6,1	53,6±4,5	0,1—0,5
4	44,0±4,2	51,8±5,2	0,3—0,2
5	32,4±3,8	33,6±5,2	0,9—0,8
6	26,6±2,9	39,4±4,1	0,01—

sușire a adrenalinei poate explica evoluția bifazică a activității mitotice, observată la nivelul epiteliului lingual.

În privința acțiunii noradrenalinei asupra activității mitotice posedăm relativ puține date. În experiențele noastre noradrenalina a inhibat activitatea mitotică la nivelul epiteliului lingual, probabil tot prin mecanisme asemănătoare ca și adrenalina. Pe de altă parte noradrenalina, chiar în doze relativ mari, nu a influențat activitatea mitotică din tumorile ascitice. La fel *Eschbach* (13) nu a înregistrat nici o acțiune a noradrenalinei asupra creșterii sarcomului *Jensen*.

În privința hidrocortizonului datele din literatură nu sînt concludente. În general dozele unice de hidrocortizon nu influențează activitatea mitotică din țesuturile epiteliale, provocînd însă o limfopenie marcată. În general acțiunea cortizonului asupra țesuturilor mezenchimale este mai accentuată decît asupra epitelilor. *Aujard* și *Chany* (4) au observat creșterea sintezei de ADN sub acțiunea hidrocortizonului. Pe de altă parte administrarea repetată de cortizon poate avea un efect inhibitor și asupra activității mitotice din țesuturile epiteliale (3, 16, 32).

În experiențele noastre ACTH-ul a desfășurat o acțiune mitoinhibitoare asupra tumorilor ascitice. Această observație ar demonstra că cortizonul endogen, secretat sub acțiunea ACTH-lui, este mult mai activ decît hidrocortizonul exogen. În mod firesc această constatare trebuie să fie documentată în continuare prin experiențe.

Experiențele noastre arată că diferitele țesuturi prezintă o sensibilitate variată față de hormonii administrați. În general epiteliul intestinal reacționează mai puțin la acțiunea hormonilor, decît epiteliul corneei sau al limbii (12). Tocmai din această cauză în orice studiu privind influențabilitatea mitozei, trebuie să fie specificați exact țesutul de test, condițiile de aplicare a acțiunii și natura efectului (26). Pe de altă parte nu am constatat diferențe în ceea ce privește reacția tumorilor ascitice de origine epitelială sau mezenchimală față de hormonii suprarenali (18).

Sosit la redacție: 25 iunie 1965.

Bibliografie

1. ALOV I. A.: *Arh. ant. hist. i embriol.* (Moskva), (1955), 32, 4, 43; 2. ALOV I. A., PAVLENKO G. I., SUHININA M. V.: *Biul. eksper. Biol i med.* Moskva (1955), 4, 63; 3. ALOV I. A.: *Biul. eksper. biol i med.* Moskva (1955), 11, 63; 4. AUJARD C., CHANY E.: *C. R. Acad. Sci.*, Paris, (1963), 257/5, 1167; 5. BAYER I.: cit. *VERZÁR F.*: *Lehrbuch der inneren Sekretion*, Liestal (1948); 6. BERGER M., KISZELY GY.: *Kísérletes Orvostudomány*, Budapest, (1954), 6, 488; 7. BULLOUGH W. S.: *J. Endocrinol.* (1952), 8, 265; 8. BULLOUGH W. S.: *Exp. Cell Research* (1955), 9, 108; 9. BULLOUGH W. S., LAWRENCE EDNA B.: *Proc. Roy. Soc.* (1962), B 154, 957, 540; 10. CHEVREMENT, CHEVREMENT-COMHAIRE: *Arch. Biol. Paris* (1953), 64, 399; 11. DANIELOPOLU D., MARCU I.: *C. R. Soc. Biol. Paris* (1940), 133, 12; 12. DOBROHOTOV V. N.: *Trudi Konferenții po voprosam regenerații i kletocinovo razmnoženja*, Moskva (1959), 231; 13. ESCHBACH W.: *Arch. Geschwulstforsch.* (1954), 7, 361; 14. FRIEDENWALD J., BUSCHKE W.: *Am. J. Physiol.* (1944), 71, 5, 689; 15. GAILLARD, VEER: cit. 10; 16. GHADIALLY F. N., GREEN H. N.: *Brit. J. Exp. Path.* (1957), 38/1, 100; 17. GYERGYAY FR., HADNAGY CS.: *Acta physiol hung.* (1957), 12, 1—3, 173; 18. GYERGYAY-MALATINSZKY E.: *Morfologia*, București, (1965), 10, 261; 19. v. HAAM, CAPPEL: *Am. J. Cancer* (1940), 39, 354; 20. KOZLOV V. V.: *Biul. eksper. biol. i med.*, Moskva (1959), 47, 1, 92; 21. KULAGHIN A. N.: *Biul. eksper. biol. i med.*, Moskva, (1959), 47, 1, 97; 22. LECOMTE, FISCHER: *Arch. intern. Physiol* (1948), 56, 25; 23. LEHMANN: cit. 10; 24. LETTRÉ H.: *Naturwissenschaften* (1942), 30, 34; 25. LÓRINCZ A.: *Teză Tg.-Mureș*, (1964); 26. LUDFORD R. J.: *J. Roy. Microscop. Soc.* (1953), 73, 1; 27. MEYERHOF, RANDAL: cit. 10; 28. MÍRZA V. D., BIANCA ILIE: *Studii și Cercetări Științifice*, Iași, Medicină (1960),

11, 2, 289; 29. NÉMETH L., KELLNER B.: Neoplasma (1961), 8, 337; 30. PARMEN-
TIER P., DUSTIN P.: Rev. belg. Pathol. (1953), 23, 1; 31. RÁCZ J.: Teză, Tg-Mu-
reş, (1964); 32. RASTANEN T.: Growth (1962), 26, 1, 1; 33. RIABUHA A. K.: Dokl.
Akad. Nauk. S.S.S.R., (1961), 149, 1, 223; 34. STRELIN G. S., KOZLOV V. V.: Arh.
anat. histol i. embriol. Moskva, (1959), 36, 2, 3; 35. STRELIN G. S., SUVOROVA L.
V.: Dokladi Akad. Nauk. S.S.S.R. (1956), 110, 3, 483; 36. TEIR H., CARPÉN I.: Acta
path. et microbiol. scand. (1959), 47, 3, 291; 37. TEIR H., ISOTALO A.: Ann Med.
exper. Biol. fenn. (1953), 31, 171; 38. UTKIN I. A.: Vestnik Akad. Nauk S.S.S.R.
(1956), 4, 22; 39. UTKIN I. A., KOSICENKO L. P.: Biul. eksper. biol. i med.,
Moskva (1956), 6, 65; 40. ZALKIND S. I.: Biul. eksper. biol. i med. Moskva, (1959),
48, 7, 99.