

Catedra de anatomie umană și medicină operatorie  
(cond.: prof. T. Maros, doctor-docent) a I.M.F. din Tg.-Mureș

## **CERCETĂRI COMPARATIVE PRIVIND EFECTELE HIDROLIZATELOR DE FICAT ASUPRA REGENERĂRII HEPATICE**

**Nota II. Acțiunea Ripasonului și a Sireparului**

*T. Maros, L. Seres-Sturm, E. Bálint, E. Poenaru*

Studiile referitoare la modul cum acționează hidrolizatele de ficat asupra dinamicii celulei hepatice au abordat tema mai cu seamă sub raportul efectelor de protecție pe care le exercită preparatele citate în cazul leziunilor acute și cronice ale ficatului, provocate prin diferite metode experimentale.

În contextul acestor preocupări nu s-a acordat atenția cuvenită cercetării acțiunii pur stimulative, ce se manifestă după administrarea hidrolizatorilor amintite, când ficatul sănătos — solicitat printr-o rezecție — este pus în condiții de regenerare.

Ca test biologic, hepatectomia parțială permite o apreciere cantitativă a schimbărilor ce se petrec în substratul funcțional al hepatocitului, sub influența factorilor stimulatori și inhibitori ai regenerării, spre deosebire de metodele care folosesc substanțe toxice, utile pentru a se putea deduce asupra acțiunii de protecție față de agenții hepatonocivi. În cazul din urmă intră în acțiune o serie de parametri inconstanți, cum sînt: reactivitatea individuală față de agentul toxic, toleranța de la caz la caz, în raport cu cantitatea administrată etc., reprezentînd tot atîtea surse de eroare cu ocazia interpretării rezultatelor.

Bazați pe aceste considerente, am efectuat încă în 1960 o serie de cercetări comparative, din care rezultă că sub raportul mecanismelor celulare antrenate în procesul de stimulare a regenerării, ies în evidență după natura preparatului diferențe importante și din punct de vedere al eficienței terapeutice (1).

Lucrarea noastră își propune să întregască sub aspectul celor arătate studiul nostru anterior și să aducă unele precizări asupra felului cum influențează hidrolizatele de ficat substratul biologic al regenerării hepatice.

#### *Material și metodă de cercetare*

Cercetările au fost făcute pe șobolani albi de ambele sexe, cu o greutate corporală de 120—125 g.

*Seria martorilor* (lotul „M”) totalizează 100 de animale sănătoase la care, după executarea unei hepatectomii parțiale, am determinat gradul regenerării hepatice la intervale de 3, 7, 14 și 21 de zile, fără să se aplice vreun tratament.

*Seria experimentală* însumează 51 de șobolani, cărora li s-a administrat parenteral hidrolizate de ficat cu 3 zile înainte de hepatectomie și după intervenție, pînă în ziua cînd au avut loc sacrificările.

*Lotul „R”*, 25 animale au primit zilnic intramuscular 0.5 ml Ripason (Röbapharm AG, Basel), extract total de ficat solubil în apă.

*Lotul „S”*, 26 de animale au fost tratate în fiecare zi cu 0.5 ml Sirepar (Kőbányai Gyógyszerárugyár, Budapest), hidrolizat de ficat solubil în apă, conținînd 10 γ Cyanocobalamină la fiecare ml. Hepatectomiile au fost executate în narcoză cu eter, după tehnica descrisă de Higgins și Anderson (2), extirparea lobului stîng și mijlociu al ficatului echivalînd cu cca. 70% a întregii mase hepatice. Șobolarii au fost sacrificați prin decapitare (cîte 25 din lotul „M” și cîte 6—7 din loturile „R” și „S”), la 3, 7, 14 și 21 de zile după îndepărtarea lobilor hepatici.

Gradul regenerării ponderale a ficatului lăsat pe loc l-am calculat cu formula lui *Canzanelli* (3) completată cu unele operațiuni de corecție propuse de alți autori (4) și de noi (5) cu scopul de a reduce pe cît posibil erorile de calcul.

Fragmentele de ficat destinate analizei histologice au fost fixate în formol neutru (10%) și în lichidul Carnoy. Preparatele secționare la gheață și în blocuri de parafină au fost colorate cu metodele: He.Eo., Sudan III, reacția Feulgen cu colorație de contrast a citoplasmei cu verde lumină (Lichtgrün) și colorația verde de metilpironină.

Indicele de mitoză (m) și al hepatocitelor binucleate (bi) a fost calculat pe baza numărării a 2000 de hepatocite la cîte 10 animale din seria martorilor și la cîte 5 animale din loturile „R” și „S”.

#### *Rezultate*

În tabelul nr. 1 sînt exprimate statistic valorile procentuale medii ale cîștigului ponderal hepatic și semnificația acestor cifre în raport cu seria martorilor.

În ceea ce privește aspectul microscopic al ficatului, menționăm câteva date esențiale.

După 3 zile la lotul „S” se remarcă o hiperemie foarte accentuată în raport cu șobolanii din loturile „M” și „R”. Steatoza este mai redusă la lotul „R” în comparație cu martorii și cu lotul „S” la care prezintă aceeași proporție. Reacția Feulgen este mai exprimată la „R” decât la „M” și „S”. Cantitatea de ARN atinge un grad maxim la lotul „R”, depășind însă și la animalele din lotul „S” valorile înregistrate la martori.

La 7 zile hiperemia se menține foarte accentuată la lotul „S”. Picăturile de grăsime nu tră dispar complet la lotul „R”, în timp ce la „S” gradul steatozei este identic cu al martorilor. Reacția Feulgen la lotul „R” este mai evidentă ca la „M” și „S”, ARN apare crescut numai la lotul tratat cu Ripason.

După 11 zile hiperemia hepatică este ceva mai pronunțată la lotul „S” decât la celelalte două. În privința reacției Feulgen nu s-au înregistrat diferențe, spre deosebire de ARN, care și în acest caz apare în cantități mult superioare la lotul „R”, mai puțin exprimat, dar totuși evident la grupul „S” — în raport cu seria martorilor.

La 21 de zile după hepatectomie, singura diferență demnă de menționat este creșterea ARN citoplasmatic la loturile „R” și „S” în comparație cu seria netrată.

Tabelul nr. 2, redă simbolic modificările cantitative observate cu ocazia examenului microscopic.

În tabelul nr. 3 reprezentăm statistic valorile medii ale indicelui de mitoză și ale hepatocitelor cu două nuclee.

### Discuții

Din cele cuprinse în capitolul precedent reiese că tratamentul cu Ripason determină pe toată durata perioadei de observație (mai cu seamă în primele 14 zile după hepatectomie) un câștig ponderal hepatic semnificativ crescut față de seria martorilor. Aceeași situație se constată și la lotul căruia i s-a administrat Sirepar, cu deosebirea că la acesta din urmă surplusul ponderal foarte semnificativ al regeneratului hepatic este prezent numai în primele 7 zile de la extirparea lobilor hepatici.

Din tabelul nr. 2 se poate deduce că Sireparul exercită asupra parenchimului hepatic o foarte pronunțată acțiune hiperemizantă, ce se manifestă mai ales în primele 7 zile, când și sporul ponderal al ficatului restant apare foarte exprimat. Probabil că diferențele de greutate ale ficatului în favoarea lotului „S”, se datoresc în primul rând aportului mărit de sânge la ficat și în mai mică măsură celulelor binucleate, care numai în ziua a 7-a prezintă un spor numeric la limita semnificației.

În perioada următoare tratamentul cu Sirepar provoacă stimularea evident semnificativă a mitozelor și a celulelor binucleate, cu o ușoară creștere a ARN (în ziua 14 și 21), fără însă ca reacția celulară să aibă un corespondent ponderal.

Tratamentul cu Ripason produce modificări histologice în ficat care au caractere cu totul deosebite de cele menționate. Dispariția timpurie (în ziua a 7-a) a steatozei hepatice, corelată cu creșterea semnificativă a mitozelor și a celulelor binucleate în prima etapă a regenerării, pledează — după cum unii dintre noi demonstraseră cu câțiva ani în urmă (6) — pentru o mobilizare mai intensă a rezervelor de energie, care stau la baza multiplicărilor celulare în ficat.

În a doua etapă a regenerării, acțiunea hepatostimulatoare a Ripasonului se traduce, așa cum reiese din tabelul nr. 3, numai sub aspectul creșterii semnificative a celulelor cu două nuclee. La acest lot este demn de menționat

Tabelul nr. 1

Lotul	Numărul animalelor	Greutatea corp. medie	Zile după hepatectomie											
			3			7			14			21		
			$\bar{x} \pm Sx$	t	P	$\bar{x} \pm Sx$	t	P	$\bar{x} \pm Sx$	t	P	$\bar{x} \pm Sx$	t	P
M	100	119	73,6 $\pm$ 1,1	—	—	83,1 $\pm$ 0,2	—	—	90,8 $\pm$ 0,7	—	—	100,6 $\pm$ 1,5	—	—
R	25	122	92,2 $\pm$ 5,7	5,208	0,001	102,4 $\pm$ 3,3	7,258	0,001	109,7 $\pm$ 2	5,708	0,001	108,4 $\pm$ 2,6	2,453	0,02
S	26	124	105,8 $\pm$ 0,8	10,190	0,001	116,3 $\pm$ 1,6	17,258	0,001	93,1 $\pm$ 7,2	0,759	—	102,3 $\pm$ 3,8	0,575	—

Tabelul nr. 2

Zile după hepatectomie		M <sup>a</sup>			R <sup>a</sup>			S <sup>a</sup>		
		H	St	ARN	H	St	ARN	H	St	ARN
3		+	+	+	+	+	+	+	+	+
7		+	+	+	+	+	+	+	+	+
14		+	+	+	+	+	+	+	+	+
21		+	+	+	+	+	+	+	+	+

Tabelul nr. 3

Zile după hepatectomie		M <sup>a</sup>		R <sup>a</sup>		S <sup>a</sup>		
		$\bar{x} \pm Sx$	t	P	$\bar{x} \pm Sx$	t	P	
3	m	4,3 $\pm$ 0,3	5,4 $\pm$ 0,2	2,524	0,05	4,4 $\pm$ 0,2	0,364	—
	bi	6,6 $\pm$ 0,3	6,2 $\pm$ 0,6	0,540	—	5,7 $\pm$ 0,5	1,612	—
7	m	1,9 $\pm$ 0,1	2,4 $\pm$ 0,1	3,080	0,01	2,1 $\pm$ 0,2	1,095	—
	bi	5,4 $\pm$ 0,2	6,4 $\pm$ 0,3	2,520	0,05	6,2 $\pm$ 0,2	2,410	0,05
14	m	0,8 $\pm$ 0,1	1,0 $\pm$ 0,06	0,972	—	1,6 $\pm$ 0,1	2,965	0,02
	bi	4,3 $\pm$ 0,6	7,1 $\pm$ 0,6	3,348	0,01	6,7 $\pm$ 0,4	2,917	0,02
21	m	0,09 $\pm$ 0,01	0,2 $\pm$ 0,03	0,912	—	0,2 $\pm$ 0,01	1,215	—
	bi	3,6 $\pm$ 0,2	7,2 $\pm$ 0,2	6,120	0,001	7,0 $\pm$ 0,2	4,675	0,001

sporirea ADN celular (în primele 7 zile) fenomen ce se întâlnește în cazurile când procesul de mitoză ia o amploare mai mare (7, 8, 9).

De asemenea și conținutul de ARN al celulelor hepatice apare mult mărit față de seria martorilor și lotul tratat cu Sirepar (mai exprimat în primele 2 săptămâni, cu tendință de revenire în ziua 21). Acest fapt arată că sporul ponderal hepatic al șobolanilor tratați cu Ripason, semnificativ superior seriei de martori pe toată durata perioadei de observație, este corelat cu intensificarea procesului de biosinteză a proteinelor hepatice.

În ce privește Sireparul, nu cunoaștem lucrări care să trateze modul cum acționează acest preparat asupra regenerării hepatice. Spre deosebire de literatura bogată, care confirmă experimental (10, 11, 12) și în special sub aspect clinic (13—26) efectele hepatoprotectoare ale Ripasonului.

Efectele pur stimulative ale acestui produs asupra regenerării hepatice după o hepatectomie parțială, au fost cercetate — după informațiile de care dispunem — numai de către *Grifoni* și *Rucci* (27, 28) pe iepuri. Acești autori insistă asupra faptului că la animalele tratate cu Ripason cantitatea de lipide din ficat este scăzută față de martori și dispariția glicogenului este mai timpurie și mai evidentă în raport cu lotul de comparație, ceea ce ar fi după ei un indiciu al mobilizării potențialului regenerativ hepatic. În continuare se subliniază printre altele creșterea remarcabilă a ARN hepatic la iepurii hepatectomizați și tratați cu Ripason, ca semn al stimulării proteinosintezei în ficat.

Aceste constatări sînt în deplină concordanță cu observațiile noastre, confirmînd utilitatea cercetării diferențiate a mecanismelor prin care factorii hepatostimulatori acționează asupra dinamicii celulare antrenată în procesul regenerării hepatice.

### Concluzii

1. Ripasonul exercită o remarcabilă acțiune stimulative asupra regenerării ficatului după o hepatectomie parțială, exprimată ponderal și citologic pe toată durata perioadei de recuperare a parenchimului extirpat. Efectul se datorează influenței pozitive a Ripasonului asupra biosintezei proteinelor din hepatocite.

2. Sireparul stimulează regenerarea ponderală a ficatului rezecat numai în prima etapă a procesului de refacere. În acest caz acțiunea hiperemizantă a preparatului este deosebit de pregnantă, cît timp efectele de stimulare a proteinosintezei se manifestă parțial, fiind mai reduse ca la seria tratată cu Ripason. Intensificarea diviziunii celulare este preponderent evidentă în etapa a doua a regenerării.

3. Se pare că dintre cele două hidrolizate de ficat, Ripasonul acționează mai susținut, efectele lui fiind mai apropiate de condițiile în care se desfășoară regenerarea fiziologică.

### Rezumat

În lucrare care reprezintă continuarea unor cercetări anterioare, autorii au studiat experimental efectele stimulative ale Ripasonului și Sireparului asupra regenerării hepatice la șobolani, după o hepatectomie parțială. Ambele preparate sînt frecvent folosite în tratamentul bolilor cronice de ficat. Cercetînd la 3, 7, 14 și 21 de zile după hepatectomie cîștigul ponderal al ficatului restant, frecvența mitozelor și a celulelor binucleate (exprimate statistic), ADN și ARN hepatic, cît și alte aspecte legate de constatările la microscop ale regeneratului hepatic, autorii constată următoarele: 1. Ripasonul stimulează în mod susținut regenerarea hepatică, intensificînd biosinteza proteinelor hepatice. 2. Sireparul are o puternică acțiune hiperemizantă,

efectele de stimulare ale proteinosintezei fiind mai puțin exprimate. Se conchide că acțiunea Ripasonului este mai apropiată de condițiile în care se desfășoară regenerarea fiziologică a ficatului.

*Sosit la redacție: la 10 noiembrie 1966.*

#### Bibliografie

1. MAROS T., KOVÁCS V. I., SERES STURM L., CSIKY M.: *Kisér. Orvostud.* (1960), 2, 182; 2. HIGGINS G. M., ANDERSON R. M.: *A.M.A. Arch. Pathol.* (1932), 14, 42; 3. CANZANELLI A., RAPPORT D., GUILD R.: *Amer. J. Physiol.* (1949), 157, 225; 4. BENGMARK S., OLSSON R.: *Acta Hepato-Splen* (1963), 10/5, 282; 5. SERES STURM L., MAROS T.: *Factori de corecție în calculul regenerării hepatice* (Manuscris); 6. MAROS T., SERES STURM L.: *Stud. cerc. embr. citol.* (Seria citol.), (1964), 1, 39; 7. CASPERSSON T. O., BRACHET J.: *Arch. Biol.* (1941), 53, 207; 8. PASTELLS J., LISON L.: *C. R. Acad. Sci. Paris* (1950), 230, 780; 9. PASTELLS J., LISON L.: *Arch. Biol.* (1950), 61, 445; 10. GRUPP G., ROULET F. C.: *Experientia* (1956), 12/11, 433; 11. TANYOL H., FRIEDMAN M.H.F.: *Proc. Soc. Experim. Biol. Med.* (1961), 106, 645; 12. PAPACHARALAMPOUS N. X.: *Acta Hepato-Splen* (1964), 11/1, 1, 13. KALLAI L., CERLEK S.: *Acta Gastro-Enterol Belgica* (1955), 18, 603; 14. SIEDE W., WALTHER B.: *Dtsch. Arch. Klin. Med.* (1955), 202, 634; 15. NORPOTH L., WINEKEN A.: *Therapie der Gegenwart* (1957), 96, 121; 16. BENASSI P., MUNARINI D.: *Minerva Med.* (1958), 49, 4324; 17. VACCARI G. L., FANTIN V.: *Clin. Terap.* (1959), 17, 284; 18. VARRÓ V., SZARVAS F., TIBOLDI T., TISZAI A.: *Med. Klinik* (1960), 55/48, 2163; 19. STIEFEL G. E., JASINSKI B.: *Acta Hepato-Splen* (1962), 9/3, 174; 20. GUTEWA E.: *Praxis* (1962), 51/17, 444; 21. SUROS J., CISCAR F.: *Medicina Clinica* (1962), 39/6, 418; 22. FLOREZ TASCÓN F. J., SERRA GARCIA E., DURAN CANTERO, J., RIVERO VALENZUELA F.: *Medicina* (1962), 30, 499; 23. MAGORSKA T.: *Przeglad Lekarski* (1962), 18/3, 351; 24. STIEFEL G. E., JASINSKI B.: *Praxis* (1963), 52/13, 367; 25. KUENZLE C.: *Praxis* (1963), 52/29, 927; 26. LÁSZLÓ B.: *Therapeut. Umschau* (1963), 20/4, 170; 27. GRIFONI F., RUCCI F. S.: *Gazetta Medica Ital* (1962), 121, 87; 28. GRIFONI F., RUCCI F. S.: *Gazzetta Medica Ital.* (1963), 122, 386.