

STUDIUL EFECTULUI ASUPRA ȚESUTULUI TUMORAL AL SUBSTANȚEI INHIBITOARE EXTRASE DIN TIMUS

dr. C. Bedő, dr. I. László, dr. Viorica L. Losonczi, dr. E. Bálint

Numeroși autori străini (8, 9, 14, 20, 21, 11, 10, 12) și români (15, 17, 16, 18, 19, 13), consemnează variatele efecte ale extractelor de timus bovin și arată modalitățile de aplicare ale acestora.

Am publicat unele rezultate obținute de colectivul nostru, în urma cercetărilor legate de experimentarea efectelor diferitelor preparate ale extractelor de timus bovin, referindu-ne îndeosebi la efectul biostimular al unei fracțiuni a extractului (2, 3, 5, 6).

Lucrarea de față prezintă unele cercetări ale colectivului catedrei noastre, care se ocupă cu efectul fracțiunii inhibitoare a extractului de timus bovin.

Metode de lucru

Experiențele au avut loc în două etape. În prima etapă am urmărit dezvoltarea celulelor tumorale în medii de cultură tratate cu fracțiunea inhibitoare a extractului (2, 7), iar în cea de-a doua ne-am ocupat cu observarea efectului substanței inhibitoare asupra țesutului tumoral la șoareci.

Culturile de celule Detroit-6 (VA) sînt păstrate la laboratorul de microbiologie a I.M.F. Tîrgu Mureș. Cultivarea celulelor a avut loc în mediul Hanks-Earle (1:1)+hidrolizat de lactalbumină (0,5%)+ser de vițel (10%) activ+1-glutamină+antibiotice și vitamine (1).

Culturile au fost inoculate în 1,8 ml din mediul menționat aflat în tuburi speciale și fiind apoi așezate în termostat la 37°C. După 2 zile de cultivare și observare, acestea au fost împărțite în 3 grupe. Prima grupă (I) ne-a servit drept control. La mediile din grupa II am introdus câte 0,2 ml din fracțiunea inhibitoare, iar la cele din grupa III câte 0,2 ml din fracțiunea biostimulatorului. Altfel metoda de preparare a „biostimulatorului” cit și cea a fracțiunii inhibitoare extrase din timus bovin am publicat-o anterior (4, 5).

Culturile astfel pregătite au fost păstrate în termostat la 37°C, timp de 4 zile și observate zilnic. Mediul de creștere n-a fost schimbat în cursul experienței. După aceste patru zile de contact cu substanța inhibitoare, tuburile, respectiv culturile au fost fotografiate și evaluate.

Înșușirea inhibitoare a dezvoltării țesuturilor tumorale am cercetat-o și pe șoareci. Am folosit 60 de șoareci din linia înbred C3H₁He, furnizați de Catedra de biologie a I.M.F. Tîrgu Mureș. Șoarecii erau bine dezvoltați, avînd greutatea de 30—35 g. După o perioadă de acomodare, șoarecii au fost cîntăriți și apoi inoculați intraperitoneal cu celule de ascită Ehrlich (23/B) (5.10⁶celule), furnizate de Catedra de anatomie patologică a I.M.F. Tg. Mureș. Lichidul de ascită a fost suspendat în ser fiziologic (1:8), din care am inoculat 0,2 ml. Suspensia a conținut și antibiotice: penicilină (100 U.I./ml) și streptomycină (50 micrograme/ml). După inoculare, șoarecii au fost grupați câte 5, formînd două grupe mari. Șoarecii din grupa I au primit zilnic subcutanat câte 0,2 ml din fracțiunea inhibitoare (adică fiecare șoarece câte 10 unități de inhibitor pe zi). Acest tratament a durat 10 zile. Animalele de experiență au fost hrănite cu un regim standard ad libitum. S-a urmărit curba ponderală a șoarecilor, din 2 în 2 zile.

Grupa II ne-a servit drept martor. Augmentarea ascitei a fost apreciată prin urmărirea greutății corporale a șoarecilor, iar după sacrificarea acestora s-a măsurat și volumul lichidului ascitic exprimat în ml. După cele 10 zile de tratament, șoarecii au fost sacrificați, fotografiați și disecați.

Rezultate și discuții

Rezultatele obținute la culturile de celule Detroit-6 arată următoarele: la grupa de control celulele sînt poligonale, unele rotunde, au margini bine delimitate, cu nucleii mari, fără modificări patologice. Acest tablou se poate observa și în figura nr. 1.

La culturile de celule care au fost tratate cu fracțiunea inhibitoare se observă retractarea acestora de pe peretele eprubetelor și dispunerea lor în insule; majoritatea celulelor au pierdut complet forma lor inițială, membrana nucleară nu se poate distinge de citoplasmă, care este fragmentată; se găsesc resturi de celule în cea mai mare parte a preparatului. Acest tablou este redat în figura nr. 2.

Dezvoltarea redusă a celulelor, alterarea și distrugerea lor se datorește acțiunii inhibitoare a fracțiunii respective, care se manifestă cu toată probabilitatea asupra unor metabolisme enzimatice.

Culturile, la care am introdus biostimulatorul izolat din timus, au prezentat un tablou microscopic asemănător cu cel observat la grupul martor. Aceste celule s-au dezvoltat într-un ritm rapid fără schimbări de forme, avînd un aspect poligonal, fiind mari și cu nucleii bine delimitați de citoplasmă. Acest tablou se observă în figura nr. 3.

Cele de mai sus dovedesc că extractul respectiv nu are acțiune toxică, ci dimpotrivă favorizează dezvoltarea celulelor.

Rezultatele cercetărilor efectuate pe șoareci ne arată următoarele: Șoarecii din grupa I (cei tratați cu fracțiunea inhibitoare) arată prin cîntărire o

creștere de numai 0,43 g (m. a. p., * $\delta^{**} = \pm 0,6$). La acești șoareci țesutul tumoral s-a dezvoltat numai minimal față de șoarecii martori, netratați. La martori (grupa nr. II) s-a înregistrat o sporire în greutate de 7,7 g (m. a. p., $\delta = \pm 2,01$).

Efectul inhibitorului se poate observa și prin măsurarea volumului lichidului ascitic, care la șoarecii tratați cu inhibitor a fost de 0,59 ml (m. a. p., $\delta = \pm 0,24$, iar la martori, lichidul a atins 6,9 ml (m. a. p., $\delta = \pm 0,55$).

Diferențele de dezvoltare a țesutului tumoral se pot observa chiar și macroscopic (vezi fig. nr. 4).

Figura nr. 4 redă cite un exemplar din fiecare grupă de șoareci. Cel din grupa nr. I are regiunea abdominală asemănătoare cu a celor normali, cel din grupa II — martorul — are un abdomen cu un diametru aproape de 2—3 ori mai mare decât a celor tratați cu inhibitor. Acest tabelu confirmă și efectul inhibitor al fracțiunii respective a extractului de timus.

Natural, modestele noastre cercetări, cu toate că pot fi considerate convingătoare trebuie lărgite, aprofundate, multiple probleme rămânând încă de elucidat. Cercetările sînt în curs.

Concluzii

— O fracțiune a extractului de timus are însușirea de a inhiba dezvoltarea unor celule.

— Activitatea de inhibare a fost demonstrată pe culturile de celule De-troit-6 in vitro și pe celulele carcinomului ascitic Ehrlich inoculate la șoareci.

Sosit la redacție: 20 octombrie 1969.

Bibliografie

1. ADERCA I., IANCONESCU M.: Culturi de celule în inframicrobiologie, Edit. Acad. R.P.R. 1962, 281; 2. BEDÓ K., HORVÁTH M.: Rev. Med. (1963), 9, 3, 301; 3. BEDÓ K.: Rev. Med. (1964), 10, 2, 169; 4. BEDÓ K.: Rev. Med. (1965), 11, 2, 133; 5. BEDÓ K.: A V-a Sesiune Științifică, Tîrgu-Mureș, 1965, 12; 6. BEDÓ K., VIORICA I., LOSONCZI, HORVÁTH M., SZÖLLÖSI A.: Rev. Med. (1968), 14, 3, 286; 7. BEDÓ K., HORVÁTH M., LÁSZLÓ J., VIORICA I., LOSONCZI, BÁLINT E.: A V-a Sesiune Științifică, Tîrgu-Mureș, 1965, 12; 8. COMȘA I., FILIP G.: Ann. de l'Inst. Pasteur (1966), 110, 3, 365; 9. COMȘA I., MEISER A.: Pflügers Arch. (1961), 272, 6, 562; 10. JEROME J. KLEIN, ALLAN L. GOLDSTEIN, A. WHITE: Ann. N. Y. Acad. Scien. (1966), 135, 1, 485; 11. MACFARLANE BURNET F. M.: Brit. Med. J. (1962), 5308, 807; 12. METCALF D.: The thymus 1966, Berlin, Heidelberg, New York; 13. MILCU ST. M., POTOP I., HOLBAN R., GHINEA E., MREANA G., BOERU V.: Stud. Cerc. Endocrin. (1965), 16, 2, 129; 14. MILLER I.: Nature (1962), 195, 1318; 15. PARHON C. I., POTOP I., BOERU B., FELIX E., PETREA I.: Com. Acad. R.P.R., (1952), 2, 7—8, 447; 16. PARHON C. I.: Opere alese. Edit. Acad. R.P.R., (1959), 3, 507; 17. PORA E., TOMA V.: Stud. Cerc. Biol. Cluj (1957), 8, 3—4; 18. POTOP IZABELLA, VERA BOERU, GEORGETA MREANA: Com. Acad. R.P.R., 1963, 13, 10, 921; 19. RUSESCU D. A., PRISCU R., GEORMĂNEANU M., STĂNESCU V., FLOREA I.: Timusul. Edit. Acad. R.P.R., 1964, 74; 20. SZENT-GYÖRGYI A., HEGYELI A., JANE A., McLAUGHLIN: Proc. Nat. Acad. Scien. (1962), 48, 8, 1439; 21. SZENT-GYÖRGYI A., HEGYELI A., JANE A., McLAUGHLIN: Proc. Nat. Acad. Scien. (1963), 49, 6, 878.

* m. a. p. = media aritmetică ponderală

** = variația standard

C. BEDO ȘI COLAB.: STUDIUL EFECTULUI
AL SUBSTANȚEI INHIBIToare



Fig. nr. 1: Mărire: Ob. 20X, Oc. 10



Fig. nr. 3: Mărire: Ob. 20X, Oc. 10X.

ASUPRA TESTICULUI TUMORAL
EXTRASE DIN TIMUS



Fig. nr. 2: Mărire: Ob. 20X. Oc. 10X.



Fig. nr. 4.