

Disciplina de histologie (cond.: conf. dr. G. L. Kemény, doctor în medicină)
și Catedra de morfologie (cond.: prof. emerit dr. T. Maros, membru corespondent al
Academiei de științe medicale) ale I.M.F. din Tîrgu-Mureș

STUDIUL ELECTRONMICROSCOPIC AL CELULELOR HEPATICE ÎN CONDIȚII DE HIPOXIE CRONICĂ EXPERIMENTALĂ

dr. Susana Almási, V. Filep, dr. L. Seres-Sturm, dr. T. Feszt

Hipoxia tisulară, indiferent de cauza care a provocat-o, este un fenomen de interes general, deoarece stă la baza mai multor procese patologice sau se găsește ca fenomen secundar al acestora. Țesutul hepatic este foarte sensibil la lipsa de oxigen care, de altfel, este de obicei implicată în procesele toxice sau infecțioase ale ficatului. Printre altele, este un fapt dovedit că administrarea medicamentelor adrenolitice și neurosimpaticolitice în caz de intoxicație cu CCl_4 , produce — prin mărirea aportului de oxigen și de sînge — diminuarea apariției fenomenelor necrotice în ficat (2). După cum reiese din cercetările lui Maros și colab. (8, 9, 10), oxigenul administrat intraperitoneal favorizează regenerarea țesutului hepatic.

Oxigenul este necesar și pentru reacțiile enzimatiche participante la conjugarea bilirubinei în hepatocite. Hanzon (5) a observat în cazul hipoxiei acute scăderea capacității hepatocitelor de concentrare și de excreție a fluoresceinei în bilă.

Datele din literatură (3, 14, 16, 17, 18, 19, 20) ne atrag atenția asupra modificărilor funcționale, morfologice, histochemice, biochimice și ultrastructurale ale ficatului în condițiile unei hipoxii acute, dar s-a cercetat mai puțin efectul unei hipoxii cronice asupra țesutului hepatic. Deci, pe de o parte este interesantă urmărirea dinamicii modificărilor hepatice survenite în hipoxii cronice, iar pe de altă parte, se pune întrebarea dacă există vreo adaptare a țesutului hepatic la condițiile unei hipoxii persistente. Toate aceste experiențe sînt cu atît mai importante cu cît prezintă o oarecare asemănare cu hepatopatiile cronice umane, în care de obicei agentul patogen acționează un timp mai îndelungat și mai lent.

Conduși de aceste idei am dori să prezentăm rezultatele cercetărilor referitoare la modificările ultrastructurale ale celulelor hepatice la șobolani în caz de hipoxie de lungă durată, apreciind starea mitocondriilor ca un indicator al stării generale a celulelor hepatice.

Material și metodă

Am studiat ficatul de la 40 de șobolani albi, masculi, cu o greutate corporală între 120—130 g, ținuți în condiții de hipoxie realizată prin vid parțial în cameră de hipopresiune. Presiunea atmosferică a fost corespunzătoare unei altitudini de 9.000 metri. Hipoxia s-a menținut permanent, fiind întreruptă zilnic doar pentru o oră, în scopul îngrijirii animalelor. Șobolanii au fost sacrificați prin decapitare după 24 de ore, 3, 7, 14, 21 zile de hipoxie. Pentru studiul electronoptic, fragmentele mici de ficat au fost fixate în soluție 1% de tetraoxid de osmiu tamponat la pH 7, 4, la o temperatură de 4°C. După spălare și deshidratare fragmentele au fost incluse în Vestopal W. Secționarea s-a efectuat cu ultramicrotomul tip Reichert, iar preparatele au fost examinate cu microscopul electronic Tesla BS 242 A. Din fiecare ficat au fost prelucrate fragmente și cu metodele histologice uzuale.

Rezultate

Hipoxie de 24 ore. În preparatele histologice, se observă o intumescență turbure în întregul lobul hepatic. Electronmicroscopic majoritatea mitocondriilor prezintă formă și mărime normală, bine conturate, cu crestele mitocondriale dispuse normal. La unele mitocondrii însă s-a observat o membrană dublă cu contrast scăzut, șters. În aceste mitocondrii poziția paralelă a creștelor dispăre, numărul lor se reduce și sînt umplute cu o matrice granulară, mai clară decît cea normală. La nivelul reticulului endoplasmic nu se constată modificări semnificative, numai pe alocuri se văd vezicule de dimensiuni mici. Numărul ribosomilor liberi pare crescut.

Hipoxie de 3 zile. Histologic, intumescența turbure a hepatocitelor este foarte evidentă; apare vacuolizarea celulară, mai ales în zonele centro-lobulare. Se observă totodată încărcarea celulelor cu grăsimi în zona centro-lobulară. Electronmicroscopic, mitocondriile apar mai voluminoase,

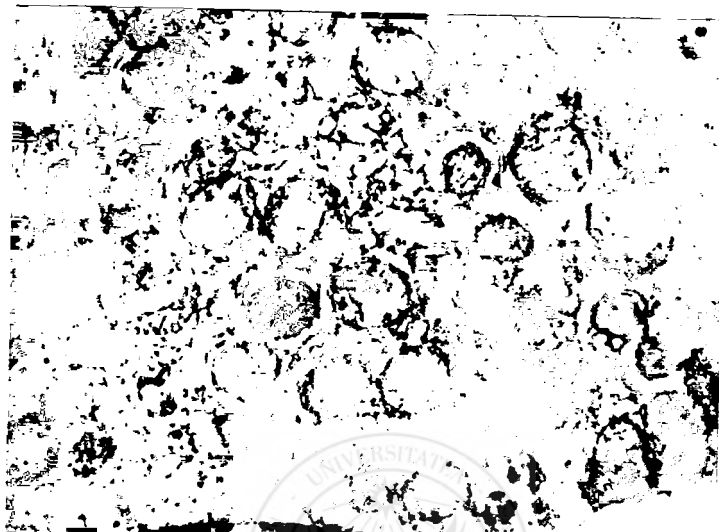


Fig nr. 1

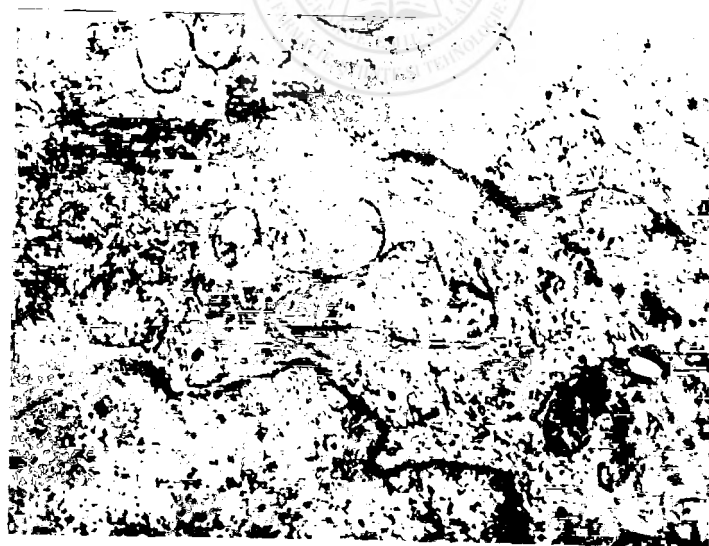


Fig nr. 2

balonate. Membrana mitocondrială este bine conturată, dar crestele sînt reduse la număr și fragmentate; în interiorul mitocondriilor apare un conținut granular. Cea mai evidentă modificare a citoplasmei constă în prezența microvacuolelor. La nivelul reticulului endoplasmic sînt prezente dilatări cu aspect vacuolar. Vacuolele au formă și mărimi variate, fiind confluențe în unele teritorii și dînd naștere spațiilor lacunare. Majoritatea vacuolelor sînt goale, însă se poate observa și un conținut granular fin (fig. nr. 1).

Hipoxie de 7 zile. În zonele centro-lobulare se observă microscopic vacuolizarea celulelor precum și depunerea de grăsimi în picături mici la o parte a lor. Din punct de vedere ultrastructural citoplasma și organitele celulare prezintă un aspect polimorf. Pe lângă mitocondrii normale se observă și mitocondrii umflate, parțial dezintegrate. Se constată și prezența unor vacuole mici, pe alocuri lacune citoplasmice. Structurile ergastoplasmice în general au aspect normal, în jurul mitocondriilor intacte prezentînd o densitate mai accentuată.

Hipoxie de 14 zile. Microscopic, în zonele centro-lobulare, pe alocuri se mai observă vacuolizarea citoplasmei, precum și depunerea discretă a picăturilor mici de grăsimi. Ultrastructural, ficatul animalelor acestui lot prezintă modificări diferite. La unele se observă o structură submicroscopică normală a celulei hepatice, iar la altele se pot evidenția mitocondrii cu un contur șters al creștelor și cu balonarea lor, o ușoară umflare a reticulului endoplasmic și prezența vacuolelor intracitoplasmice.

Hipoxie de 21 zile. Structura histologică a ficatului este normală. Aspectul ultrastructural al hepatocitelor în general este normal. Mitocondriile și ergastoplasma nu prezintă alterări, vacuolele citoplasmice au dispărut (fig. nr. 2).

Discuții

După cum rezultă din cercetările efectuate la șobolani în hipoxie de lungă durată, ultrastructura celulelor hepatice prezintă alterări cu aspect diferit în funcție de timpul menținerii animalelor în condiții de suboxigenare. Se constată balonarea și clarificarea mitocondriilor acestora. Creștele intramitocondriale se reduc la număr, prezentînd o fragmentare și dezintegrare, matricea lor este clară sau ușor granuloasă. Lamele ergastoplasmice își pierd paralelismul lor, reticulul endoplasmic fiind umflat și dezintegrat, prezentînd o vacuolizare difuză.

Privind dinamica modificărilor descrise am constatat că acestea se prezintă în funcție de durata menținerii animalelor în stare de hipoxie. Apariția leziunilor ultrastructurale ale celulelor hepatice începe la 24 ore de hipoxie, atingînd un maxim după 3 zile. În ziua a 7-a și a 14-a se constată o diminuare a leziunilor ultrastructurale; la o parte a animalelor observîndu-se din ziua a 14-a un tablou electronmicroscopic normal. După 21 zile de hipoxie am constatat revenirea la normal a aspectului celulelor hepatice.

Autorii care au studiat ficatul sub aspect electronmicroscopic în stările de hipoxie, nu au un punct de vedere unitar în această privință. Astfel *Bassi* și colab. (1), *Hanson* (6) au observat că în condițiile de hipoxie acută vacuolizarea accentuată a citoplasmei coincide cu un aspect normal al mi-

tocondriilor și al structurilor ergastoplasmice. Din contră, *Mölberr* și colab. (11, 12), *Oudea* (15) au constatat că pe lângă vacuolele citoplasmice apar modificări importante ale mitocondriilor și ale reticulului endoplasmic. Cercetările noastre efectuate în hipoxie de durată confirmă ultima părere, demonstrând leziuni mitocondriale și alterări ale reticulului endoplasmic.

Între structura organitelor celulare și activitatea funcțională a acestora există strinse legături. Este bine cunoscut faptul că mitocondriile reprezintă centrul energetic și oxidativ al citoplasmei. Mitocondriile asigură celulelor și energia utilizabilă pentru procesele de sinteză, care au loc în diferite structuri citoplasmice. Aici se realizează biosinteza unor materiale inițiale din care se formează ulterior compuși mai complecși ai structurii citoplasmice (4, 7, 13, 14). Alterările mitocondriale exprimă deci, o diminuare a respirației celulare și a rezervelor energetice ale celulei, care au un efect dismetabolic și asupra celorlalte organite. Astfel vicierea proceselor producătoare de energie urmată de modificări fizico-chimice în organitele hepatice, duc la dezvoltarea leziunilor reacționale citopatologice; tulburările metabolismului celular se manifestă nu numai în activitatea funcțională scăzută, ci și în faptul că celulele devin incapabile de a păstra structura lor normală.

Alterarea morfologică a mitocondriilor și a reticulului endoplasmic în hipoxie acută este un fenomen reversibil care dispare repede după asigurarea cantității normale de oxigen. *Mölberr* și colab. (11, 12) au observat că leziunile survenite în hipoxia acută dispar după 30 de minute de menținere a animalelor în atmosferă normală. În cursul hipoxiei de lungă durată, noi am observat că o dată cu restabilirea structurii normale a mitocondriilor din celulele hepatice ale animalului supus hipoxiei, se restabilesc și celelalte structuri citoplasmice. Deci și în cazurile noastre s-a dovedit reversibilitatea acestor leziuni, în ciuda faptului că s-a menținut starea de hipoxie. Acest fenomen se poate interpreta ca o adaptare funcțională a țesutului hepatic la condițiile hipoxice, survenind și reintegrarea morfologică a celulelor hepatice. Tabloul electronoptic demonstrează că o dată cu dispariția leziunilor hipoxice ale hepatocitului se petrece reintegrarea infrastructurală a celulelor. Aceasta ne indică faptul că ficatul are o capacitate mare de adaptare manifestată morfologic și ultrastructural în condiții de hipoxie cronică, care se caracterizează prin revenirea la normal atât din punct de vedere microscopic cit și electronmicroscopic. Pe baza acestor cercetări se pune problema adaptării celulelor hepatice și la alte suprasolicitări, cum sînt de exemplu hiperbilirubinemiile cronice. În ceea ce privește mecanismul reintegrării morfologice și ultrastructurale a hepatocitelor trebuie să fie luat în considerare un mecanism complex neuroendocrin și vascular.

Sosit la redacție: 7 iunie 1973.

Bibliografie

1. *Bassi M., Bernelli-Zazzera A., Cassi E.:* J. Path. Bact. (1960), 79, 179; 2. *Brody T. M., Calvert D. N., Schneider A. F.:* J. Pharmacol exp. Ther. (1961), 131, 341; 3. *Büchner F.:* in: Handbuch der Allgemeine Pathologie, vol. IV/2, 469. Ed. Springer, Berlin 1956; 4. *Cossel I.:* Die menschliche Leber im Elektronmikroskop. Ed. Fischer, Jena, 1964; 5. *Hanzon*

V.: Acta Physiol. Scand. (1952), 28, Suppl. 101; 6. Hanzon V.: Europ. Regional Conf. on Elektron-microscopy, Delft, 1960; 7. Hesin R. B.: Biochimia citoplasmei. Ed. medicală, București, 1960; 8. Maros T., Csiky N., Seres-Sturm L., Kovács V. V.: Rev. Med. (1960), 6, 175; 9. Maros T., Seres-Sturm L.: Regenerarea ficatului. Ed. Academiei R.S.R., București, 1969; 10. Maros T., Seres-Sturm L., Csiky N., Kovács V. V.: Kisérl. Orvostud. (1960), 12, 40; 11. Mölbert E.: Beitr. Path. Anat. (1957), 118, 203; 12. Mölbert E., Guerritore D.: Beitr. Path. Anat. (1957), 117, 32; 13. Novikoff A. B.: in: The Cell, vol. II. Ed. Brachet J. and Mirsky A. E., Acad. Press. New York, 1960; 14. Novikoff A. B., Essner E.: Am. J. Med. (1960), 29, 102; 15. Oudea P.: Rev. Int. Hépatol. (1962), 12, 253 și Lab. Invest. (1963), 12, 386; 16. Pichotka J.: in: Handbuch der Allgemeine Pathologie, vol. IV/2, 497, Ed. Springer, Berlin, 1956; 17. Pohl W.: Z. ges. inn. Med. (1962), 17, 199; 18. Rouiller Ch., Simon G.: Rev. Int. Hépatol. (1962), 12, 167, 19. Seres-Sturm L.: Cercetări experimentale cu privire la efectele hipoxiei hipobarice asupra structurii, funcției și regenerării ficatului. Teză de doctorat, I.M.F. Iași, 1967; 20. Zugravescu I., Motoc F., Constantinescu S., Constantinescu C.: St. cert. biochim. (1961), 6, 337.
