

Răspunsul unor glande endocrine la tratamentul acut cu polidin

I. Chiricuță, Z. Uray, Mariana Maniu, Z. Frenkel*, A. D. Abraham**

REZUMAT

Studiul experimental efectuat pe șobolani albi (Wistar), cărora li s-a administrat 0,5 ml/kilocorp Polidin și după o oră i.p. 0,5 μ Ci/g radiofosfor, a arătat că: administrarea de Polidin produce, pe lângă efectele de stimulare nespecifică a mijloacelor de apărare antiinfecțioasă a organismului, și o activare a sistemului hipofizosuprarenalian, o reacție de stres de tip neuroendocrin.

*Studii experimentale
Polidinum methyisulfuricum
Sistem hipofizo-suprarenal*

Într-o lucrare anterioară am arătat că Polidinu, administrat la șobolani în doze de 0,5 ml/kilocorp, produce în primele zile după injectare o creștere semnificativă a nivelurilor urinare de 17-hidroxi-corticosteroidi totali, 17-cetosteroidi totali și a 17-cetosteroidilor 11-oxigenați (2). Continuând aceste cercetări, am studiat, cu ajutorul radiotrasoarelor, efectul tratamentului acut cu Polidin asupra activității unor glande endocrine. Prin studiul încorporării radiofosforului (32 P) și a radiorubiidiului (86 Rb) am determinat modificările metabolismului energetic și ale debitului circulator al hipofizei, suprarenalei, tiroidei, timusului și pancreasului. De asemenea, cu ajutorul acetatului marcat (14 C) am studiat biosinteza colesterolului liber și a hormonilor glucocorticoizi în suprarenala șobolanilor albi netratați și tratați cu o doză unică de Polidin.

MATERIAL ȘI DISCUȚII

S-a lucrat cu șobolani albi (Wistar) masculi, de 200 ± 10 g, ținuți la un regim standard de crescătorie.

Loturi de câte 10 șobolani au fost injectate intraperitoneal cu 0,5 ml ser fiziologic (lot control), respectiv cu 0,5 ml/kilocorp Polidin (lot experimental), iar după o oră ambele loturi au fost injectate i.p. cu 0,5 μ Ci/g radiofosfor ($\text{Na}_2\text{H}^{32}\text{PO}_4$).

Animalele au fost sacrificate prin narcoză cu eter, la 2 ore după administrarea radiotrasorului. S-a recoltat: sânge din cord, hipofiză,

* Institutul Oncologic Cluj-Napoca (director: prof. dr. doc. I. Chiricuță)

** Centrul de Cercetări Biologice Cluj-Napoca (director: prof. dr. Ioan Puia)

suprarenală, tiroidă, timus și pancreas. Organele cîntărite au fost solubilizate în KOH 1 N. Probe de cîte 0,1 ml din soluțiile organelor au fost puse pe ținte și după uscarea au fost măsurate cu un contor GM tip VAZ-320 (cuplat la un numărător electronic de particule VAKUTRONIK VA-M-16-D. Rezultatele au fost exprimate în impulsuri/minut pe 100 mg țesut și în coeficient :
$$\frac{\text{impuls/minut}/100 \text{ mg organ}}{\text{impuls/minut}/0,1 \text{ ml plasmă}} \quad (10).$$

Pentru a determina efectul Polidinelui asupra irigației sanguine a organelor endocrine, s-a utilizat metoda repartiției rubidiului radioactiv (^{86}Rb) elaborată de Sapirstein (6).

La 3 ore după injectarea i.p. a serului fiziologic (lot control), respectiv a Polidinelui în doză de 0,5 ml/kilocorp (lot experimental), animalele au fost injectate i.v. cu cîte 10 μCi $^{86}\text{RbCl}$. După 40 sec., animalele au fost sacrificate cu o injecție i.v. de soluție saturată de KCl.

Organele prelevate au fost cîntărite și solubilizate într-o soluție de KOH 1 N. Radioactivitatea organelor a fost măsurată cu un contor de scintilație prevăzut cu un cristal scobit cuplat la un numărător electronic de particule VAKUTRONIK VA-M-16D.

Rezultatele au fost exprimate în impulsuri/minut/100 mg organ.

Pentru determinarea biosintezei colesterolului liber și a hormonilor glucocorticoizi, animalele au fost injectate i.p. cu ser fiziologic (lot control), respectiv cu 0,5 ml/kilocorp Polidin (lot experimental). La 2 ore după administrarea Polidinelui (lot A) și la 24 ore (lot B), animalele au fost injectate i.p. cu 2 μCi de acetat de sodiu ($2\text{-}^{14}\text{C}$), iar după o oră de la injectarea radiotrasorului au fost sacrificate prin decapitare.

Glandele suprarenale au fost recoltate imediat, cîntărite la balanța de torsion și omogenizate în metanol. Omogenatul a fost centrifugat la 3 000 RPM, supernatantul fiind introdus într-un vas de sticlă. Reziduul a fost tratat cu un amestec de metanol și acetat de etil (3:1), extracția fiind repetată cu acetat de etil de două ori, folosind metoda Bernauer și Schmidt de extracție a hormonilor glucocorticoizi (1). Supernatantele au fost reunite și evaporate la sec, la 37°C . Reziduul obținut după evaporare a fost reluat în 0,2 ml acetat de etil și aplicat pe plăci de cromatografie în strat subțire de silicagel cu fluorescență F_{254} (0,25 mm Merck). Cromatogramele au fost dezvoltate cu un amestec de benzen și acetonă (4:1). Poziția colesterolului liber și a hormonilor glucocorticoizi (corticosteron și hidrocortizon) a fost determinată cu ajutorul luminii ultraviolete și cu reactivi specifici (4). Spoturile au fost decupate și extrase cu metanol. Radioactivitatea probelor a fost determinată cu ajutorul metodei de scintilație în lichid, utilizînd soluția T-fluor și un spectrofotometru de scintilație în lichid tip Betaszint BF-5 003. Rezultatele au fost exprimate în impulsuri/minut/100 mg organ. Datele obținute au fost evaluate statistic după testul „t” al lui Student.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Rezultatele privind acțiunea Polidinelui asupra încorporării radiofosforului în glandele endocrine sînt prezentate în tabelul I.

Din datele tabelului reiese că Polidinel administrat în doză unică (0,5 ml/kg) produce o activare moderată a metabolismului energetic în

hipofiză și suprarenale. În schimb, la nivelul tiroidei, timusului și pancreasului se poate constata o tendință de diminuare a radiofosfocaptării.

Modificările debitului circulator al acestor glande sînt prezentate în tabelul II.

Tabelul I

Încorporarea radiofosforului în glandele endocrine, exprimată în coeficient
imp/min/100mg organ
imp/min/0,1 ml plasmă

Lot	Hipofiza $\bar{X} \pm ES$	Suprarenala $\bar{X} \pm ES$	Tiroida $\bar{X} \pm ES$	Timus $\bar{X} \pm ES$	Pancreas $\bar{X} \pm ES$
Control	4,2±0,5	6,5±1,1	8,6±0,4	9,9±1,1	6,4±2,1
Polidin 3 ore	5,5±0,1	8,1±1,8	7,4±1,0	9,1±0,1	4,1±0,1
	0,1 > p > 0,05	0,2 > p > 0,1	0,5 > p > 0,2	p > 0,5	0,5 > p > 0,2

Tabelul II

Repartiția radiorubidiului (⁸⁶Rb) în glandele endocrine, exprimată în imp/min/100 mg organ
proaspăt

Lot	Hipofiza $\bar{X} \pm ES$	Suprarenale $\bar{X} \pm ES$	Tiroida $\bar{X} \pm ES$	Timus $\bar{X} \pm ES$	Pancreas $\bar{X} \pm ES$
Control	863±143	996±76	1 507±224	1 420±300	687±130
Polidin 3 ore	950± 92	1 022±72	1 383±193	1 370±280	603±109
	p 0,5	p 0,5	p 0,5	p 0,5	p 0,5

Debitul circulator nu se modifică semnificativ la nici unul dintre organele studiate. Totuși, în cazul hipofizei și al suprarenalelor este moderat crescut, iar în cel al tiroidei, timusului și pancreasului este moderat diminuat, rezultate ce par a fi în concordanță cu cele obținute prin radiofosfocaptare.

Datele privind biosinteza colesterolului liber și al hormonilor glucocorticoizi sînt prezentate în tabelul III.

Rezultatele sînt exprimate în impulsuri/minut/100 mg organ proaspăt.

Din acest tabel se poate constata că la 3 ore după administrarea Polidinelui, încorporarea acetatului marcat în colesterolul liber crește cu 26,6%. La 3 ore încorporarea radiotrasorului în hormonii glucocorticoizi nu este semnificativ modificată. La 24 ore după administrarea Polidinelui, încorporarea acetatului marcat în colesterolul liber crește cu 18,1%, iar în hormonii glucocorticoizi crește semnificativ cu 24,8% (p < 0,05).

Efectele stimulative ale Polidinelui asupra suprarenalei de șobolan descrise mai sus sînt în deplină concordanță cu constatările noastre

Efectul administrării Polidinelui asupra ratei incorporării in vivo a acetatului de sodiu ($2-^{14}C$) în colesterolul liber și hormonii glucocorticoizi din glandele suprarenale ale șobolanilor albi

<i>Lot</i>	<i>Colesterol liber</i>	<i>Hormoni glucocorticoizi</i>
Control	1 616 ± 129	1 504 ± 89
A) Polidin 3 ore	2 046 ± 154 0,1 > p > 0,05	1 229 ± 101 0,1 > p > 0,05
B) Polidin 24 ore	1 909 ± 201 0,1 > p > 0,05	1 887 ± 126 p < 0,05 (semnif.)

anterioare făcute la cobai, unde Polidinelul provoacă în primele zile după injectare dublarea nivelurilor urinare de 17-hidroxycorticoizi, 17-cetosteroizi totali și 17-cetosteroizi 11-oxigenați, toți metaboliți ai glucocorticoizilor sintetizați în exces de suprarenală. Stimularea suprarenalelor s-ar datora, între altele, și unor bacterii gramnegative, componente ale produsului polibacterian (5).

DISCUȚII ȘI CONCLUZII

Pe lângă reacțiile specifice de menținere a homeostaziei, organismul dispune și de o reacție nespecifică generală de adaptare și apărare (8, 9). În dirijarea acestor procese de adaptare sistemul hipotalamo-hipofizo-corticosuprarenal are un rol deosebit de important prin producerea crescută de ACTH și de hormoni corticosuprarenali. Hormonii glucocorticoizi eliberați contribuie în mod esențial la creșterea potențialului energetic și a rezistenței organismului (3, 7).

Din constatările noastre reiese că administrarea de Polidin produce, pe lângă efectele de stimulare nespecifică a mijloacelor de apărare anti-infecțioasă ale organismului (formarea de anticorpi, creșterea titrului aglutinelor și a indicelui opsonocitofagic, creșterea nivelului properdinei), și o activare a sistemului hipofizosuprarenalian, o reacție de stres de tip neuroendocrin (neurosecreție crescută în centrele hipotalamice, secreție de ACTH și biosinteză și secreție crescută de glucocorticoizi).

Utilizarea Polidinelului ca factor stimulator al rezistenței nespecifice și ca adjuvant al terapiei complexe antitumorale, pe baza rezultatelor experimentale și clinice, pare pe deplin justificată.

BIBLIOGRAFIE

1. BERNAUER W., SCHMIDT L. — *Arzneimittelforschung*, 1963, 13, 1 075—1 077.
2. CHIRICUȚĂ I., FRENKEL Z., URAY Z., SIMU G. — *Agressologie*, 1981, 22, 3, 105—108.
3. CHIRICUȚĂ I., CRIVII MARIA-SENA, URAY Z. — *Agressologie*, 1981, 23, 3.
4. NEHER R. — *Un : Steroid Chromatography*, Ed. Elsevier Publ., Comp., Amsterdam, Londra, New York, 1964, p. 122—126.
5. PENCEA I., HOISIE S., POPESCU C. — Comunicările Simpozionului „Influențarea nespecifică a răspunsului imun“, Iași, 28 oct. 1977, p. 27—47.

6. SAPIRSTEIN L. A. — *Amer. J. Physiol.*, 1958, 193, 161—165.
7. SELYE H., STONE H. — On the experimental morphology of the adrenal cortex, Ed. Springfield, Illinois, 1950.
8. SELYE H. — In: *Az endokrinológia újabb eredményei*. Ed. Medicina, Budapesta, 1963. p. 151—155.
9. SELYE H. — *Hormones and Resistance*, Ed Springer, Berlin — Heidelberg — New York, 1971.
10. URAY Z., DEREVENCO V. — *Radiobiologia și biologia moleculară*, 1968, 2, 59—79.

Articol intrat în redacție la 29.III.1984

Indicele de clasificare : 616—006.6—085.75:615.371.6

S U M M A R Y

I. Chiricuță, Z. Uray, Mariana Maniu, Z. Frenkel, A. D. Abraham — THE RESPONSE OF SOME ENDOCRINE GLANDS TO ACUTE POLYDIN THERAPY

An experimental study carried out in white Wistar rats to which 0.5 ml Polydin/kg b. w was administered followed one hour later by i.p. injection of 0.5 μ Ci radiophosphorus/²⁴h, showed that the administration of Polydin produces not only unspecific stimulation of the means of antiinfectious defence of the body but also activation of the hypophysoadrenal system, a stress reaction of neuroendocrine type.

Р Е З Ю М Е

II. Кирикуца, З. Урай, Мариана Маниу, З. Франкел, А. Д. Абрахам — ОТВЕТ НЕКОТОРЫХ ЖЕЛЕЗ ПРИ ОСТРОМ ЛЕЧЕНИИ ПОЛИДИНОМ.

Экспериментальное исследование осуществляемое на белых крыс (Вистар), которым администрировался Полидин 0,5 мл/килотело и после час и.п. 0,5/^у Си/день радиофосфор, показывали что: администрирование Полидина вызывает кроме неспецифических эффектов стимулирования средств антипаразитарной защиты организма и активацию гипофизосупраренальной системы, реакция стресса неврожелезистого типа.

R E C E N Z I E

THE BIOLOGY OF TUMOUR MALIGNANCY (BIOLOGIA MALIGNITĂȚII TUMORALE)

G. V. Sherbet,

Academic Press, Londra. 1982. 255 pag.

Principalele attribute ale malignității, tumorale sînt capacitatea de invazie și metastazarea, fenomene pe care autorul le abordează în lumina cunoștințelor actuale, urmărind identificarea unor criterii biologice pentru cuantificarea lor.

Prima parte a monografiei prezintă istoria naturală a cancerului, de la apariția tumorii primare pînă la formarea și dezvoltarea metastazelor. Indiferent de factorul etiologic implicat, transformarea neoplazică a celulelor este ereditară, această primă etapă de inițiere fiind un preludiv la procesul de lungă durată al proliferării tumorale. Dezvoltarea neoplazică este de fapt o progresiune prin diferite stadii cantitative de modificări ireversibile ale caracteristicilor tumorale. Progresia se realizează independent pentru diferitele proprietăți, rezul-

tatul fiind apariția heterogenității tumorale, fapt pe deplin recunoscut astăzi, care explică marea variabilitate de comportament a tumorilor în ceea ce privește evoluția sau răspunsul lor la tratament. Proliferarea tumorală este favorizată de însăși celulele transformate, care câștigă capacitatea de a secreta o serie de factori care facilitează creșterea locală sau diferitele etape ale diseminării. Printre cei mai importanți este factorul de angiogeneză tumorală, sub influența căruia este stimulată proliferarea endoteliului vascular, cu inducerea legăturilor vasculare între tumoare și organismul gazdă, rezultatul fiind accelerarea rapidă a creșterii tumorale. După ce tumoarea a ajuns în această fază vasculară, există toate condițiile pentru metastazare, proces care, la rândul lui, se desfășoară în mai multe etape: detașarea celulelor tumorale și invazia vaselor limfatice și sanguine, transportul lor în sistemul vascular, atașarea lor de endoteliul vascular, extravazarea în țesuturi și inițierea creșterii secundare, respectiv a metastazelor. Organismul nu rămâne pasiv la acest proces de diseminare și există o mulțime de interacțiuni între gazdă și celulele tumorale, care sînt prezentate pe larg, cu date recente asupra diferitelor lor ipostaze cum sînt rolul prostaglandinelor, mecanismele de evaziune a supravegherii imunologice, rolul proteinelor imunosupresive, al celulelor ucigașe naturale etc.

Partea a doua, mai amplă, abordează epigenetica malignității tumorale. Epigenetica este studiul cauzelor dezvoltării și diferențierii celulare ca rezultat al reglărilor prin acțiuni genetice, existînd multe similitudini între proliferarea tumorală și dezvoltarea embrionară sau a țesuturilor regenerative. Malignitatea este interpretată ca o proprietate biologică intrinsecă a celulelor, definită prin comportamentul lor biologic, gradul de diferențiere și expresia fenotipică a diferențierii sub forma markerilor paraneoplazici. Dezvoltarea neoplazică este privită ca o extensie a procesului de diferențiere în sensul că procesul de progresie tumorală reprezintă o restricție progresivă a diferitelor opțiuni de diferențiere existente. În contextul acestei concepții, autorul prezintă sindroamele paraneoplazice, subiectul unui capitol extrem de interesant. Producerea de hormoni, peptide biologice active sau antigeni embrionari de către țesuturi care în mod normal nu le sintetizează, denotă existența unor mecanisme de activare a anumitor porțiuni ale genomului, care în mod normal nu sînt operative, respectiv tumori care câștigă funcții noi de diferențiere, proces înrudit astfel cu diferențierea normală. Corelarea sindroamelor paraneoplazice cu țesutul de origine relevă că majoritatea sînt asociate cu neoplasme ale unor organe de origine endodermală. Produșii sintetizați ectopic corespund cu activitatea de sinteză normală a organelor histogenetic înrudite, cum este sindromul ACTH ectopic, mai frecvent asociat cu tumorile timice sau cancerile pulmonare, ACTH-ul fiind în mod normal produs de lobul anterior al hipofizei, care derivă — ca și timusul sau plămînul — din aceeași formațiune embriologică.

Caracteristicile biologice tumorale care reflectă cel mai fidel malignitatea sînt gradul de diferențiere, ritmul de creștere, gradul de deviație al cariotipului față de normal și potențialul de invazie. Țesutul tumoral, cu excepția deviației cariotipului, are aceste caracteristici în comun cu țesuturile embrionare sau cele regenerative. Conform modelului epigenetic propus de autor, modificările neoplazice constituie o de-determinare, cu câștigarea unui stadiu inferior de competență, aceasta fiind capacitatea țesuturilor de a răspunde la anumiți stimuli inductori de diferențiere. Un astfel de țesut devine susceptibil la alte activări genetice decît cele corespunzătoare etapei respective de diferențiere, cu modificarea în consecință a procesului de creștere și manifestarea lui, sinteza unor produși anormali sau a unor antigeni embrionari.

În încheiere, autorul propune un test epigenetic de grading al malignității (*Epigenetic Grading* (EGG)), care constă din punerea în contact de celule embrionare și tumorale *in vitro*. Prezența celulelor neoplazice determină un răspuns celular și histogenetic specific la nivelul blastodermului embrionar a cărui intensitate reflectă potențialul evolutiv al tumorii respective. Rezultatele experimentale și clinice sugerează o mai mare sensibilitate a testului EGG decît a gradingului histologic pentru aprecierea malignității tumorale și a gradului în care gazda este capabilă să controleze extinderea bolii, cu reale implicații pentru prognostic și tratament.

Monografia lui G. V. Sherbet este o lectură extrem de interesantă în egală măsură pentru clinicieni și experimentatori, care incită la o meditație serioasă asupra mecanismelor intime ale proliferării și malignității tumorale.

Dr. N. Ghilezan