

## ACȚIUNEA UNOR SUBSTANȚE ANTIMITOTICE ASUPRA RESPIRAȚIEI TISULARE HEPATICE LA ȘOBOLANI

### Modificarea consumului de oxigen sub influența substanțelor antimitotice\*

A. Kiss, Ana Eperjessy, Viorica Kovács

Literatura tot mai bogată a substanțelor antimitotice a fost sistematizată în ultimul timp de unii autori pe baza mecanismului de acțiune a substanțelor inhibitoare (2, 3, 4, 5, 10, 11, 12).

Lucrarea de față își propune să contribuie la cunoașterea mecanismului de acțiune a substanțelor antimitotice, în special a acidului beta-indolacetic, a colchicinei, a uretanului (*Merck*), a sarcomicinei (*Meiji*), a azotului de muștar (*Boots* și *Merck*), a degranolului (*Chinoin*) și a sarcolizinei (*Melphalan*). În acest scop s-a cercetat influența substanțelor antimitotice de mai sus asupra consumului de oxigen al țesutului hepatic de șobolani.

#### Metode și rezultate

Determinările s-au efectuat prin metoda Warburg modificată (1). În experiențe s-au folosit 0,2 g din ficatul șobolanilor ținuți în inaniție timp de 24 ore. într-o soluție de 3 ml tampon fosfat M 15 la un  $\text{pH} = 7,38$ . Măsurarea consumului de oxigen s-a efectuat paralel cu proba de control. S-a determinat consumul de oxigen la intervale de 120 de minute, citirea manometrilor făcându-se din 20 în 20 de minute.

Rezultatele sînt ilustrate în graficele alăturate, unde consumul de oxigen este exprimat în  $\mu\text{l}$ , scotînd valorile după 60 de minute.

Așa cum reiese din aceste grafice, citostaticele studiate de origine vegetală și anume, acidul beta-indolacetic și colchicina exercită diferite influențe în funcție de concentrația consumului de oxigen al țesutului hepatic de șobolani.

Astfel, acidul beta-indolacetic în concentrație de 1,5 mg abia influențează consumul de oxigen, în schimb într-o concentrație de 10 mg diminuează intens consumul de oxigen al țesutului hepatic. Concentrațiile mici (ca de exemplu 0,1—0,01 mg) micșorează de asemenea consumul de oxigen, dar rezultatele nu s-au dovedit a fi semnificative.

Acidul beta-indolacetic, fiind o substanță de origină vegetală, a fost studiat pînă acum în primul rînd în experiențe pe plante. Credem că atît din

\* Lucrare prezentată la Simpozionul „Biochimia Cancerului”, Iași 27—28 noiembrie 1964.

punct de vedere teoretic cît și practic studierea acțiunii acestei substanțe asupra celulelor animale prezintă un deosebit interes. Experiențele lui *Leahu*, *Gyergyay* și *Hadnagy* (9) au demonstrat că acidul beta-indolacetic în doze de 2—10 mg inhibă activitatea mitotică din glandele intestinale. În cercetările noastre am putut stabili de asemenea că acidul beta-indolacetic are o acțiune inhibitoare asupra respirației țesutului hepatic. Aceste observații arată că acidul beta-indolacetic are o acțiune toxică mai generală asupra țesuturilor animale, inhibînd atît metabolismul cît și înmulțirea țesuturilor animale.

După cum reiese din cercetările noastre, colchicina nu influențează considerabil consumul de oxigen al țesutului hepatic nici în concentrații de 0.1; 0.5; 1.0; 2.0; 5.0; 10.0  $\mu$ g.

Rezultatele noastre (8), precum și cele recente din literatură, dovedesc că colchicina, utilizată sub diferite forme și în terapia cancerului, nu alterează, chiar în concentrații relativ mari, metabolismul celulelor hepatice. Acest fapt pledează în favoarea părerii că substanța cercetată, care nu alterează celulele hepatice normale, nu are însușiri toxice generale. Cercetările lui *Dustin* (3) arată că colchicina are o acțiune mitostatică, deci acționează asupra celulelor în cariochineza, și nu asupra celulelor în interfază.

Experiențele confirmă aceasta constatare, arătînd că celulele din interfază, ca și celulele hepatice, nu sînt sensibile față de această substanță.

Datele din literatura de specialitate sînt încă lacunare în ceea ce privește mecanismul de acțiune a colchicinei și rolul ei în organismul animal. După cum arată cercetările lui *F. Grizoni* (4) colchicina influențează în mod negativ metabolismul acizilor nucleici și în special al acizilor dezoxiribonucleici.

S-a studiat în același timp și acțiunea etiluretanului, substanță antimitotică din grupa antimetabolitelor, medicament folosit în tratamentul leucemiei mieloide. S-a constatat (6) că dozele de 1, 10, 50 mg uretan nu influențează în mod considerabil consumul de oxigen al țesutului hepatic de șobolani.

Din grupa antibioticelor cu acțiune antimitotică am studiat sarcomicina.

Datele graficului alăturat, privind respirația tisulară, dovedesc că sarcomicina folosită în concentrație de 25, 50, 100, 200  $\mu$ g nu a influențat considerabil consumul de oxigen al ficatului de șobolani. Rezultatele noastre confirmă părerea lui *Oboshi* și colab. (11) și anume că sarcomicina nu este un antimetabolit sau o toxină a mitozei celulare care acționează asupra țesutului, ci o substanță care degradează celulele în mod direct.

În continuare, cercetările noastre s-au centrat asupra substanțelor antimitotice din grupa cloretilaminei. În ultimile două decenii sinteza substanțelor chimioterapice s-a dezvoltat într-un ritm vertiginos. Paralel cu aceasta a fost clarificată corelația dintre structura și mecanismul de acțiune a chimioterapicelor.

În experiențele noastre am ales azotul de muștar (metil bis beta-cloretil-amina), degranolul (1.6-di-odezozil-cloretil-amino-D-manita) și sarcolizina (p-di-2-cloretilamino-1-fenilalanin clorhidrat). Rezultatele experiențelor sînt ilustrate în graficele alăturate.

Din cercetările noastre reiese că azotul de muștar în cantitate de 50, 100, 200  $\mu$ g nu influențează în mod considerabil consumul de oxigen al țesuturilor hepatice de șobolani. În concentrația de 200  $\mu$ g consumul de oxigen se intensifică în funcție de timp.

De asemenea reiese că degranolul nu influențează în nici o concentrație consumul de oxigen al țesutului hepatic de șobolani.

Sarcolizina în concentrații mici inhibă consumul de oxigen, iar în concentrație de 50  $\mu$ g mărește consumul de oxigen al țesutului hepatic față de experiențele de control.

## TIMPUL DETERMINĂRII 60 DE MINUTE CONSUMUL DE OXIGEN ÎN $\mu\text{l}$

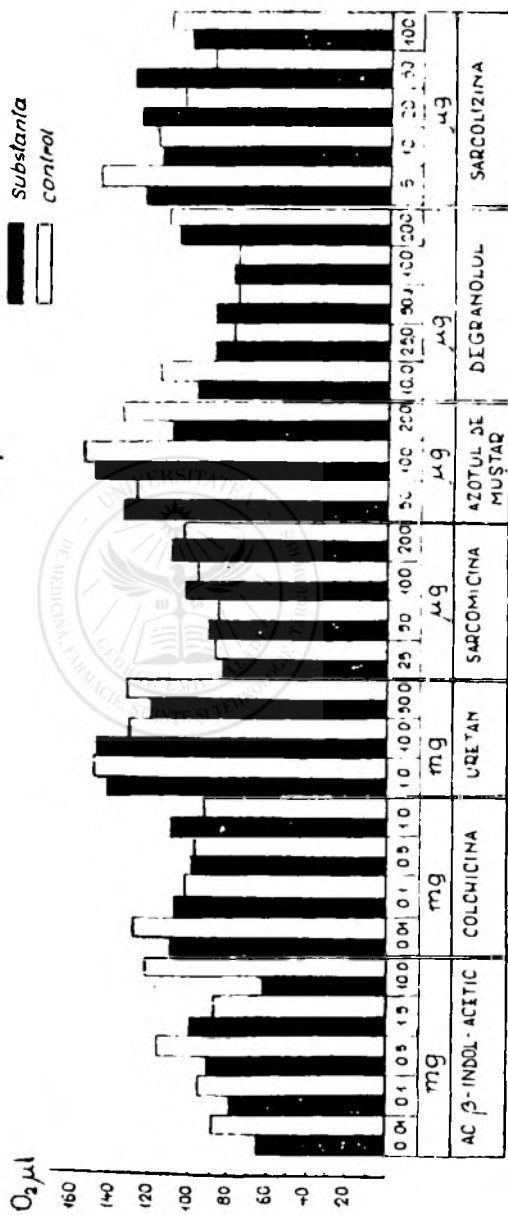


Fig. nr. 1.

Cauza fenomenelor de mai sus nu poate fi explicată încă în întregime, deoarece fazele respirației și ale glicolizei tisulare normale și patologice nu diferă în mod considerabil.

*Warburg* și colab. au examinat respirația țesuturilor normale și tumorale cu metoda manometrică elaborată de ei, constatând că respirația țesuturilor tumorale este mai scăzută decât cea a celor normale.

Substanțele antimetabolice studiate au probabil o acțiune asupra fermenților respiratori (ca de ex.: NAD, NADP), despre care știm că se găsesc în tumori maligne în proporție mai redusă și mai ales sub formă oxidată. Ipoteza noastră este confirmată și de *S. Green* și *O. Bodansky* care prin experiențele lor au aflat că în urma tratamentului cu azotul de muștar la șoareci, raportul formării acidului lactic și a coenzimei NAD scade brusc paralel cu creșterea difosfopiridinnucleotidazelor care joacă un rol important în procesele glicolitice. În cercetările noastre viitoare ne propunem să clarificăm mecanismul de acțiune a acestorași substanțe, studiat pe țesut normal și patologic prin determinarea coeficientului Meyerhof (MQ), a efectului Pasteur (PE) și a coeficientului de respirație (RQ).

*Sosit la redacție: 1 iulie 1965.*

#### *Bibliografie*

1. ANNAU E., EPERJESSY ANA, ZATURECZKY ZS., MIHÁLYI E.: Orvostudományi Szakkör Értesítője (1944), 59, 3; 2. DE BERNARD B.: Bollettino della Societa Italiana di Biologia Sperimentale, (1951), XXVII, Fasc. 5, 803; 3. DUSTIN A.: Revue de Cytologie et de cellules végétales. (1941), Fasc. 3—4, IV—V. Bull. Acad. Roy. Belg. (1934), 14, 487; 4. FRANCESCO GRIXONI: „Minerva Dermatologica“, (1953), Anno XXVIII, 1 (Gennaio); 5. KISS A., EPERJESSY ANA, CSEGEDI J., HADNAGY CS., NEMES L.: Revista Medicală (1957), 4; 6. KISS A.: Revista Medicală (1959), 3; 7. KISS A., EPERJESSY ANA, CSEGEDI J., HADNAGY CS.: Revista Medicală, (1957), 1; 8. KISS A., HADNAGY CS., EPERJESSY ANA: Naturwissenschaften, Springer Verlag, Berlin (1959), Heft 10, S 360; 46 Jahrgang; 9. LEAHU L., GYERGYAY F., HADNAGY CS.: Naturwissenschaften (1951), 48, 17, 575; 10. LARIONOV L. F.: Chimioterapia Tumorilor Maligne. Editura Medicală, București, 1963; 11. OBOSHI S., AOKI K., SAKURABA T.: J. Antibiot. (1955), 8, 156; 12. ZAMBOTTI V., e. DE BERNARDI B.: Bollettino della Societa Italiana di Biologia Sperimentale. (1952), XXVIII. Fasc. 3, 320.