

EFECTUL INTOXICAȚIEI ACUTE ȘI SUBACUTE CU CLAFEN ASUPRA UNOR CONSTANTE BIOCHIMICE LA ȘOBOLANI*

Éva Balogh, V. Molnár, Jozefa Szöcs, Maria Ajtay, Ildikó Fülöp

Clafenul, produs al Fabricii de antibiotice din Iași, (Endoxan), este un produs indigen folosit în terapia neoplasmelor.

A fost sintetizat în 1958 de *Arnold* și *Bourseaux*, avînd compoziția chimică: acid N, N-di (β -cloretil) N¹-O = propilen-diamidofosforic. Este un agent alchilant inactiv in vitro, transformîndu-se în organism în formă activă. După *Brock* și *Hohorst* (2) această transformare are loc mai ales la nivelul microzomilor hepatici ca efect enzimatic, în prezența oxigenului și a TPNH. Autorii citați au izolat prin cromatografie Clafenul activat din serul sanguin și urina șobolanilor tratați, precum și din secțiunile hepatice, respectiv incubatele de microzomi hepatici. Formele active sînt diferiți produși de dezintegrare, cu activitate citotoxică. Produsul primar de activare poate fi socotit cel cu structură fosfamidată extraciclică, care posedă și o grupare de azotiperită [amidat al acidului N, N-di (β -cloretil) O— (—3—aminopropil) fosforic]. (1, 2, 3, 4). S-a mai identificat și un metabolit care nu conține fosfor: nor-azotiperita.

Efectul citotoxic în serul sanguin apare la 1 oră după administrarea parenterală, iar peste 2 ore scade treptat și dispăre complet în 24 de ore. *Voiculeți* (5) a ajuns la rezultate similare folosind Clafenul marcat cu izotopul P³².

Clafenul are o toxicitate considerabilă, la șobolani albi. DL₅₀ i. peritoneal fiind de 160 mg/kg (7), iar i. v. 160—200 mg/kg (2, 6).

În literatura de specialitate găsim numeroase date privind efectele secundare nefavorabile la bolnavii tratați cu Endoxan, ca: tulburări tranzitorii ale tubului digestiv, anorexie, vărsături, diaree (8, 9, 10, 11); tulburări în hematopoeză, (granulocitopenie și leucopenie) (6, 8, 12, 13); precum și frecvente cazuri de cistite hemoragice (14, 15, 16, 17).

La animalele de experiență afectează atît spermioogeneza, cît și formarea anticorpilor (7, 18).

Metabolizîndu-se în primul rînd în ficat s-a presupus apariția alterărilor specifice la acest organ. Prin observații clinice însă s-au găsit probe funcționale remediate în urma administrării Endoxanului. Nivelurile inițiale crescute ale LDH și ale transaminazelor serice produse de boală s-au atenuat (19, 20). Experiențele efectuate pe animale au arătat în schimb că administrarea dozelor mai ridicate decît cele terapeutice provoacă alterări trecătoare în ficat (6).

Pentru completarea datelor existente privind efectul patogen al Clafenului, ne-am propus studierea experimentală a acțiunii acestuia asupra unor constante biochimice în intoxicații acute și subacute. Am cercetat activitatea aldolazei și a transaminazelor serice și hepatice, activitatea catalazei și colinesterazei din sînge, comportarea succindehidrogenazei, fosfatazelor alcaline și acide din ficat și modificările în fracțiunile proteice-serice.

* Lucrare comunicată la ședința U.S.S.M. Tîrgu Mureș, a secției de Medicină legală, la 13 noiembrie 1968.

EVA BALOGH ȘI COLAB : EFECTUL INTOXICĂȚII ACUTE ȘI SUBACUTE
CU CLAFEN ASUPRA UNOR CONSTANTE BIOCHIMICE LA ȘOBOLANI

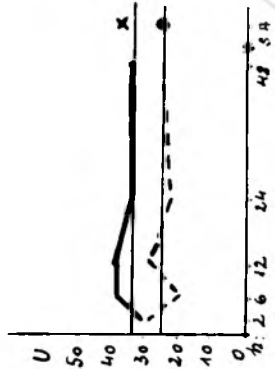


Fig. nr. 1 : Activitatea aldolazei din ser și ficat. — din ser, - - - din ficat.

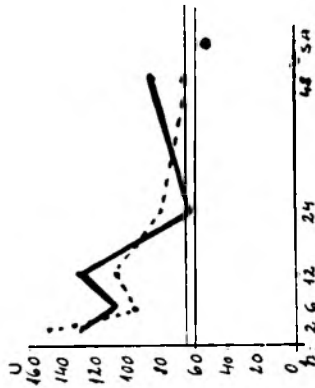


Fig nr. 2 : Activitatea GOT in ser și in ficat. — in ser, - - - in ficat.

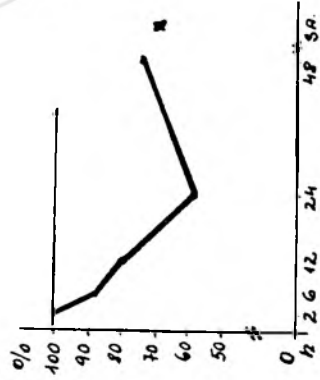


Fig. nr. 3 : Activitatea colinesterazei în singe.

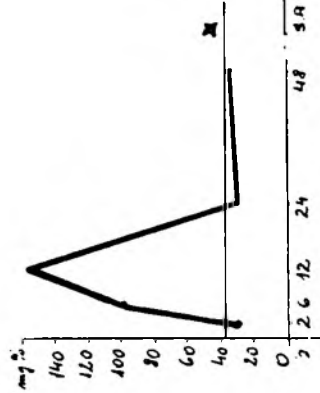


Fig nr 4 : Activitatea SGH-ului în ficat.

Notă: Valorile obținute în intoxicația subacută sînt însemnate cu X, respectiv cu ●.

Material și metodă

S-au efectuat cercetări pe șobolani albi, masculi, cu greutatea de 150—250 g. cărora li s-a administrat intraperitoneal cîte 100 mg/kg corp Clafen în soluție apoasă. La 2, 6, 12, 24 și 48 ore după administrare au fost sacrificate loturi de cîte 5 șobolani; lotul martor a primit numai solventul. La intoxicația subacută s-a administrat zilnic cîte 10 mg/kg corp Clafen timp de 21 de zile sub protecție de penicilină. (La o doză de 15 mg/kg corp. 80% din animale au sucombat).

Aldolaza din ser și din omogenizatul hepatic s-a determinat după metoda Bruns și Puls, exprimînd rezultatele în mod direct în extincțiile fotometrice obținute (21); activitatea transaminazelor glutamico-oxalacetice (GOT) și glutamico-piruvice (GPT), au fost măsurate după metoda Reitmann-Frenckel și exprimată în unități Wroblewski/ml (22); activitatea catalazei din sînge s-a determinat după metoda Bach și Zubkova modificată și s-a exprimat în H_2O_2 -mg (25); activitatea colinesterazei s-a dozat după metoda Fleischer și Pope modificată de Eidelmann și s-a exprimat în M acetilcolină/0,2 ml sînge (24). Activitatea SDH s-a dozat fotometric din omogenizat de ficat după metoda Naclas, exprimată în mg% (26). Fosfatazele alcaline și acide au fost demonstrate pe cupe microscopice după metoda Gömöri. Modificările fracțiunilor proteice din ser au fost determinate cu metoda electroforezei pe hîrtie, colorarea efectuîndu-se cu amidoschwartz 10 B și folosînd metoda eluției (25).

Rezultate

I. Activitatea aldolazei din ser prezintă o ușoară creștere în 6—12 ore revenind apoi la valorile normale; în ficat după o ușoară creștere în primele 2 ore, prezintă mici variațiuni care rămîn însă în limitele fiziologice. În cazul intoxicației subacute nu am găsit modificări față de nivelul normal (fig. 1).

II. Activitatea GOT din ser prezintă o creștere semnificativă (215%) $p < 0,01$ în primele 12 ore, apoi scade treptat aproape la valorile normale în timp de 24 de ore. În ficat o creștere pronunțată a fost observată în primele 2 ore, revenind treptat aproape la valorile normale în decurs de 48 de ore, creșterea fiind semnificativă încă pînă la 12 ore ($p < 0,01$). În intoxicația subacută valorile de GOT din ser se ridică cu 120%, deci în mod significant ($p < 0,01$), în ficat însă nu prezintă o modificare semnificativă. Activitatea GPT din ser și din ficat nu s-a modificat remarcabil față de valorile normale, nici în intoxicația acută, nici în cea subacută — arătînd totuși o ușoară creștere (fig. nr. 2).

III. Colinesteraza în sînge prezintă o activitate treptat scăzută atîngînd valorile de 58% la 24 de ore după administrare, apoi o creștere progresivă pînă la sfîrșitul experienței (48 ore). La dozarea subacută valorile medii sînt la limita de 78%, deci o scădere semnificativă (fig. nr. 3).

IV. Activitatea SDH hepatic a prezentat o creștere bruscă atîngînd chiar valori triple după 12 ore față de activitatea inițială, apoi scade treptat aproape la valorile normale în curs de 24 de ore; la 21 de zile prezintă valori normale (fig. nr. 4).

V. Clafenul a produs o dispreteinemie ușoară prin schimbarea raportului fracțiunilor proteice. Albumina a diminuat cu creșterea paralelă a fracțiunilor α_1 și α_2 -globuline, restul fracțiunilor rămînînd în limitele extremelor fiziologice.

În intoxicația subacută nu se modifică raportul A/G, însă această situație nu reprezintă fidel dispreteinemia produsă, fiind o hipoproteinemie generală semnificativă și în cadrul globulinelor se remarcă o schimbare relativ însemnată: scăderea fracțiunii gamaglobulinice, respectiv sporirea fracțiunilor α_1 , α_2 și betaglobulinelor (scăderea producției imun-globulinelor).

VI. Activitatea fosfatazei alcaline în ficat în primele 4 ore rămîne normală prezentînd o activitate slabă în nucleii celulari și în elementele portale. La 6 ore

activitatea devine difuz pozitivă în protoplasma celulelor hepatice, crescând în continuare timp de 48 de ore. Paralel cu aceasta, fosfataza acidă prezintă o diminuare treptată pînă la 12 ore și revine la limitele normale în 24 de ore.

În intoxicația subacută (21 zile), fosfataza alcalină are o activitate ușor crescută, fiind însă legată mai mult de nucleul celular. Este de menționat faptul că în acest caz atît fosfataza alcalină, cît și cea acidă prezintă o pozitivitate difuză pe cupe, fapt care pledează pentru creșterea așa-ziselor „fosfataze-lizabile.”

VII. Valorile catalazei sanguine obținute în intoxicațiile acute au fost atît de inhomogene, încît nu s-au putut evalua. La tratamentul subacut prezintă însă în mod constant o scădere significantă (70.9%, $p < 0.01$).

Discuții

Se constată că, Clafenul în doză de 100 mg/kg corp administrat intraperitoneal, nu are un efect evident asupra activității aldolazei și transaminazei glutamico-piruvice. Activitatea GOT din ser și din ficat, precum și activitatea SDH hepatic cît și fosfataza alcalină, au prezentat o creștere semnificativă numai în primele 12 ore ale intoxicației, revenind la normal după 24 de ore, deci o singură doză mai ridicată afectează în mod trecător funcțiile hepatice. Sînt de asemenea în concordanță cu această constatare și datele proteinogramei datorită descompunerii rapide în organism și eliminării metaboliților activi ai Clafenului în decurs de 24 de ore.

Scăderea activității colinesterazei se explică prin formarea unui ester organo-fosforic în cursul dezintegrării Clafenului. Constatările noastre sînt apropiate de cele ale lui Wolff (11), efectuate in vitro cu diferite concentrații de endoxan, respectiv cu observațiile lui pe bolnavii tratați cu acest medicament. Pe baza acestor observații se presupune că efectele secundare clinice de tip parasimpaticotonice observate din partea tubului digestiv sînt consecințele acumulării acetilcolinei în organism.

Modificările constatate în tratamentul subacut cu doze tolerate (10 mg/kg corp) sînt în corelație pregnantă cu simptomele clinice cunoscute ca fenomene parasimpaticotonice, disfuncții hepatice și sensibilitate crescută la infecții.

Sosit la redacție: 16 decembrie 1962

Bibliografie

1. BROCK N., HOHORST H. J.: *Oncologia și Radiologia* (1967), VI, 1, 49; 2. BROCK N., HOHORST H. J.: *Arzneimittel Forschung*, (1963), 12, 1021; 3. WILMANN H.: *Oncologia și Radiologia* (1966), V, 5, 455; 4. GRUNICKE H., LIERSCH M.: *Biochem. Pharmacol.* (1965), 14, 11, 1485; 5. VOICULEȚI N.: *Revue roumaine de Biochimie* (1965), 2, 2, 177; 6. PICHLMAYER R.: *Klinische Wochenschrift*, (1965), 43, 10, 543; 7. DOEPFNER R.: *Arzneimittel Forschung*, (1966), 11, 1533; 8. TODOROV J., JULIEVA ȘT.: *Oncologia și Radiologia* (1967), VI, 1, 75; 9. BERNOT H.: *Klinische Wochenschrift* (1965), 6, 333; 10. BERGMANN: *Strahlentherapie* (1966), 129, 3, 406; 11. WOLFF H.: *Klinische Wochenschrift* (1965), 43, 15, 819; 12. KARRER K.: *Oncologia și Radiologia* (1967), VI, 1, 67; 13. WHEELER A. C.: *Toxicology and Appl. Pharm.* (1962), 3, 324; 14. ECHARDT S.: *Magyar Onkologia* (1967), 3, 155; 15. OPPERS L.: *Klinische Wochenschr.* (1966), 44, 8, 450; 16. PERLMAN: *J. Urol.* (1966), 95, 5, 713; 17. RUBIN S.: *J. Urol.* (1966), 96, 3, 313; 18. STENDER H.: *Arzneimittel Forschung*, (1963), 12, 1031; 19. BAMDROVSKI A.: *Oncologia și Radiologia* (1966), V, 33, 225; 20. STARK C.: *Klinische Wochenschr.* (1964), 42, 8, 375; 21. ALTERAS J.: *Metodele Laboratorului Clinic*, Ed. Med. București, 1964; 22. BERGMAYER H. V.: *Metoden der enzymatischen analyse*, 1962; 23. GEORGESCU P., PĂUNESCU E.: *Metode biochimice de diagnostic și cerce-*

tare. Ed. Medicală, București. 1960; 24. EIDELMANN M. M.: Laboratornoie delo (1963), 10, 29; 25. DITTMER A.: Papirelektrophorese, VEB, Verlag Jena, 1961; 26. NACLAS: După „Indicator de reactivi pentru analize medicale“, Ed. Med. București, 1964.
