

Disciplina de anatomie patologică (cond.: conf. dr. F. Gyergyay, doctor în medicină)
și Disciplina de farmacologie (cond.: conf. dr. Gh. Feszt, doctor în medicină) ale
I.M.F. Tîrgu Mureș

ACȚIUNEA VITAMINEI B₁₂ ASUPRA LIMFOMULUI ASCITIC NK/LY ȘI A TUMORII ASCITICE DE ȘOBOLAN OIA

dr. I. Kun

Vitamina B₁₂ este frecvent întrebuițată în terapie. În afară de anemia Addison-Biermer, care constituie indicația sa principală, se administrează și în diferite alte anemii megaloblastice, în numeroase afecțiuni neurologice, în hipertiroidism, în diabetul zaharat, la copiii distrofici, în bolile ficatului (hepatite cronice), în hipogalactie, ca roborant general, ca adjuvant în tratamentul bolii ulceroase, în geriatrie etc.

Cunoscînd acțiunea vitaminei B₁₂ asupra metabolismului acizilor nucleici și al nucleoproteinelor, precum și faptul că în terapie ea se folosește frecvent în doze mari, nu este lipsit de interes studiul efectului acesteia asupra dezvoltării tumorilor maligne. Acțiunea substanțelor asupra proceselor tumorale poate fi studiată sub diferite aspecte. În cadrul experiențelor am urmărit două dintre acestea:

1. acțiunea vitaminei B₁₂ asupra proliferării celulelor neoplazice,
2. influența ei asupra supraviețuirii animalelor purtătoare de tumori.

Material și metodă

Pentru a cerceta proliferarea celulelor neoplazice am folosit 560 de șoareci Albino-Rosso, de ambele sexe, cu o greutate corporală de 20—30 g, împărțiți în loturi de câte 10. Animalele au fost inoculate intraperitoneal cu lichid ascitic, conținînd tumoarea NK/Ly. La 4—5 zile după inoculare am administrat — tot intraperitoneal — vitamina B₁₂, o singură dată, în doze cuprinse între 0,01—10 micrograme. Într-o experiență am administrat acid folic, în doză de 15, respectiv 1,5 micrograme. Loturile de animale au fost sacrificate pe rînd, la interval de 30 de minute, 1, 2, 3, 4, 6 și respectiv 24 de ore după tratament. Lichidul ascitic obținut s-a fixat și s-a colorat cu acet-orceină, determinîndu-se indicele mitotic, rezultatele fiind evaluate statistic cu testul „t”. Experiențele au fost efectuate în perioade identice ale zilei, eliminînd astfel erorile care ar fi putut proveni din variațiile circadiene ale indicelui mitotic.

Supravețuirea animalelor purtătoare de tumori am cercetat-o pe 36 de șobolani, repartizați în 3 loturi de câte 12, inoculați cu tumoare ascitică O1A. Primul lot a primit de 5 ori câte 5 micrograme de vitamina B₁₂ i.m., în decurs de 21 de zile, după inoculare. Lotul al doilea a fost tratat cu vitamina B₁₂ i.m., atît înaintea inoculării tumorii, primind de 3 ori câte 5 micrograme în decurs de 8 zile, cît și după inoculare (aplicîndu-i-se tratament similar cu primul lot). Al treilea lot a servit drept martor, fiind inoculat numai cu tumoare.

Rezultate

Rezultatele experiențelor în care am urmărit efectul vitaminei asupra proliferării celulare sînt cuprinse în tabelul nr. 1. Din datele noastre reiese

Tabelul nr. 1

Modificările indicelui mitotic (I.M.) din tumoarea NK/Ly la animalele tratate cu vitamina B₁₂

Doza vitaminei B ₁₂	Intervalul între administrarea vitaminei și determinarea I.M.						
	½ h	1 h	2 h	3 h	4 h	6 h	24 h
0,01 mcg	56	34**	59			97	
0,1 mcg	75	50*	38*	56	370	82	133
1,0 mcg	120		69	92	183	34***	68*
5,0 mcg	129	48	32*	30**	141		
10,0 mcg	83			98	7***	103	81

Valorile indicelui mitotic sînt exprimate în procente, considerînd 100 % I.M. al lotului martor. Fiecare cifră reprezintă valoarea medie a unui lot de 10 șoareci.

Semnificația: * indică p<0,10

** indică p<0,05

*** indică p<0,001

că majoritatea dozelor de vitamina B₁₂ au determinat o scădere a indicelui mitotic, sau nu l-au modificat apreciabil. Efectul inhibitor semnificativ apare mai rapid (în jur de 1 oră) după dozele mici (0,01—0,1 micrograme) și mai târziu (3—6 ore) după dozele mai mari (1—10 micrograme). Rareori s-a observat și o creștere ne semnificativă a indicelui mitotic.

În experiența efectuată cu acid folic am găsit un efect stimulant puternic (semnificația: 0,001 p < 0,01 respectiv 0,02 < p < 0,05) asupra indicelui mitotic. Aceasta denotă că acidul folic a avut o acțiune contrară și mult mai semnificativă față de cea a vitaminei B₁₂.

Durata medie de supraviețuire a șobolanilor inoculați cu tumoarea OIA, se prezintă în felul următor: seria martor a trăit după inocularea tumorii 25,8 zile, lotul tratat cu vitamina B₁₂ 27,25 zile, iar lotul care a primit vitamina B₁₂ atât înainte, cât și după inoculare a trăit 23,91 de zile.

Discuții

Acțiunea vitaminei B₁₂ asupra tumorilor maligne este o problemă controversată. Pe baza rezultatelor experimentale, de multe ori contradictorii, autorii exprimă păreri divergente, care în afară de aspectul lor teoretic au și o reală importanță practică.

Administrarea vitaminei B₁₂ în neoplasme ar fi adeseori binevenită, deoarece, datorită acțiunilor sale multiple, ea ar putea contribui la restabilirea unor funcții alterate în organismul purtător de tumori. Astfel, s-a remarcat că vitamina B₁₂ ameliorează tabloul sanguin la canceroși (*Bulkina* și *Polyak*) scade considerabil efectele secundare nedorite ale substanțelor alchilante (*Massetto* și *Butto*, *Boisseau* și *Paulet*, *Bulkina* și *Polyak*) și ale antimetaboliților (*Littmann* și colab.). Se cunoaște acțiunea ei hepatoprotectoare, pe care o manifestă și față de unele substanțe cancerigene (*Hadnagy*, *Mitbänder* și colab., *Vaisler* și colab., *Crăciun* și colab. etc.), precum și acțiunea ei roborantă favorabilă la cei suferinzi de neoplasme. Administrarea ei își are importanța și în prevenirea anemiei periculoase cauzată de lipsa factorului intrinsec, în urma gastrectomiilor pentru tumori. Vitamina B₁₂ a fost aplicată în doze masive în tratamentul neuroblastomului (*Isaacs*, cit. de *Borsotti*) și retinogliomului (*Bodian*, cit. de *Păcurariu*), provocând însă remisii prin stimularea excesivă a proliferării celulare, care a dus la tulburări trofice și necroze intratumorale consecutive.

Totuși, la ora actuală majoritatea autorilor consideră contraindicată administrarea vitaminei B₁₂ în neoplasme, chiar și în caz de suspiciune, având în vedere efectul ei stimulator asupra proceselor de proliferare celulară. *Gyergyay*, *Hadnagy* arată că vitamina B₁₂ crește indicele mitotic în țesuturile normale, iar *Crăciun* și colab. menționează acțiunea ei mitogenă la nivelul ficatului.

Numeroși autori arată că vitamina B₁₂ administrată concomitent cu substanțe cancerigene, înlesnește procesul de cancerizare (*Georgadze*, *Day*, *Dessi*, *Mittler*). Alții au observat că are un efect stimulator asupra creșterii tumorale; astfel *Miller* (cit. de *Oleson*) în cazul sarcomului Rous la pui, *Bulkina* și *Polyak* la sarcoame și carcinoame de șoarece și șobolan, *Allison* și *Arnstein* descriu accentuarea proliferării celulelor tumorale în culturile de țesuturi.

Dar în literatura aferentă nu s-a semnalat pînă în prezent nici un caz în care vitamina B₁₂, singură, ar fi avut un efect cancerigen. În unele tumori experimentale, asociată cu substanțe cancerigene, a manifestat chiar un efect inhibitor asupra degenerării canceroase (*Murtala*). Alți autori descriu inhibarea creșterii tumorale, astfel *Taddei* (cit. de *Borsotti*) în cazul adenocarcinomului Ehrlich.

În aprecierea acestor rezultate contradictorii are probabil rol important doza vitaminei. Se pare că dozele mari înlesnesc procesul de cancerizare și creștere a tumorilor (autorii mai sus amintiți, care au observat efecte stimulative, au folosit doze mari). Uneori însă, dozele foarte mari, prin stimularea excesivă a proliferării, produc tulburări trofice, necroze și astfel o regresie a tumorii. Dozele mici de

vitamină par să manifeste un efect inhibitor asupra cancerizării (Murtula) și a creșterii tumorii (*Bulkina* și *Polyak*). Autorii din urmă au constatat că vitamina, în doze mici, practic n-a influențat efectul antitumoral al tiofosamidei asupra carcinomului Guerin, în doze mari însă a scăzut considerabil acest efect.

În afară de doză, în determinarea acțiunii vitaminei, are o importanță deosebită originea și tipul histopatologic al tumorilor. *Rigby* și *Bodian* susțin că vitamina B₁₂ are o acțiune selectivă față de tumori. Ei au găsit în cazul fibrosarcomului PWA₂ de șobolan o intensificare a creșterii neoplazice, iar în cazul neuroblastomului C₁₃₀₀ de șoarece o micșorare în creștere, în ambele cazuri administrându-se doze masive.

În literatură există puține date privind efectul vitaminei asupra țesutului limfoid. Acțiunea ei asupra tumorilor experimentale de tip limfomatos nu a fost încă cercetată.

În experiențele noastre am cercetat efectul vitaminei asupra limfomului ascitic. În majoritatea cazurilor am înregistrat o scădere a indicelui mitotic, sau neinfluențarea lui și rareori o creștere nesemnificativă. Se pare că inhibarea a apărut numai la o concentrație tisulară relativ mică de vitamină. Dozele mari au avut un efect inhibitor mai târziu, probabil fiindcă scăderea concentrației lor (prin metabolism, transport și excreție) la valori inhibitoare a necesitat un interval de timp mai mult sau mai puțin îndelungat. În legătură cu calea de administrare intraperitoneală a vitaminei B₁₂ se ridică problema, dacă indicele mitotic nu a fost oare influențat de vehiculul soluției injectabile, în special de substanța conservantă. Cu toate că nu putem exclude posibilitatea acestei influențe, credem totuși că e neglijabilă, deoarece în diluțiile mari folosite de noi, concentrația acestor ingrediente a fost extrem de mică pentru a manifesta vreun efect apreciabil.

În experiențele în care am studiat supraviețuirea sub influența vitaminei B₁₂, animalele din lotul tratat cu vitamină exclusiv după inocularea tumorii au trăit în medie cu 1,45 zile mai mult, iar cele tratate cu vitamină, atât înainte cit și după inoculare, au trăit în medie cu 1,89 zile mai puțin ca lotul martor. Aceste rezultate denotă că vitamina B₁₂ nu influențează în mod semnificativ supraviețuirea șobolanilor

Concluzii

1. Majoritatea dozelor (între 0,01—10 micrograme) de vitamină B₁₂, administrată intraperitoneală șoarecilor cu limfom ascitic NK/Ly, au manifestat un efect inhibitor asupra indicelui mitotic. Acest efect a apărut mai rapid la dozele mici, apoi, după un anumit interval, și la celelalte doze folosite. Acidul folic, în doze de 1,5 și 15 micrograme a crescut intens indicele mitotic.

2. Tratamentul cu vitamină B₁₂, de 5 ori 5 micrograme, după inocularea tumorii, respectiv de 3 ori 5 micrograme înainte și 5 ori 5 micrograme după inoculare, n-a influențat supraviețuirea șobolanilor purtători de tumoare OIA.

Sosit la redacție: 16 martie 1970.

Bibliografie

1. ALLISON A. C., ARNSTEIN H. R.: *Biochim. Biophys. Acta* (1961), 49, 566;
2. BOISSEAU J., PAULET G.: *Exp. Med.* (1965), XVI, 8, 3788;
3. BORSOTTI P. C. și colab.: *Minerva Med.* (Torino), (1964), 55, 1051;
4. BULKINA Z. P., POLYAK N. R.: *Vop. Onkol.* (1968), 14, 4, 70;
5. CRĂCIUN O., PEDA V.: *Clujul Med.* (1968), 41, 1, 117;
6. CRĂCIUN O., CARPIN E.: *Clujul Med.* (1968), 41, 2, 207;
7. DESSI P.: *Arch. exper. Path. u. Pharmacol.* (1957), 230, 499;
8. GEORGADZE G. E.: *Exp. Med.* (1960), XVI, 8, 6421;
9. GYERGYAY F., HADNAGY CS.: *Int. Z. Vitaminforsch.* (1961), 31, 497;
10. LITTMANN M. L. și colab.: *Cancer Chemother. Rep.* (1962), 16, 353;
11. MASSETTO I., BUTTO M.: *Exp. Med.* (1957), XVI, 5, 4542;
12. MITBANDER V. B. și colab.: *Exp. Med.* (1963), XVI, 10, 4220;
13. MITTLER S.: *Exp. Med.* (1955),

XVI, 3, 1208; 14. MURTULA G.: *Exp. Med.* (1957), XVI, 5, 800; 15. OLESON J. J., XVI, 3, 1208; 14. MURTULA G.: *Exp. Med.* (1957), XVI, 5, 800; 16. PĂCURARIU I. și colab.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* (1949), 71, 226; 17. RIGBY C. C., BODIAN M.: *Brit. J. Cancer* (1963), 17, 1, 90; 18. VAISLER L. și colab.: *Stud. Cercet. Endocrinol.* (1962), 13, 767.