

TERAPIA IMUNOSUPRESIVĂ ÎN BOLILE REUMATICE. CONSIDERAȚII ÎN LEGĂTURĂ CU MECANISMUL DE ACȚIUNE AL SUBSTANȚELOR CITOSTATICE

dr. H. Siering

În ultimii ani s-a acordat o importanță crescândă mecanismului de formare a autoanticorpilor, mai ales după ce rolul acestora în patogeniza multor îmbolnăviri a devenit cunoscută. Pe lângă colagenoze, autoanticorpii (A.C.) cauzează numeroase afecțiuni ale ficatului, rinichiului, inimii și sistemului hematopoetic, acest fapt fiind valabil și pentru îmbolnăvirile reumatismale. În epoca transplantelor de organe această problemă capătă o importanță capitală, întrucât comportarea unui transplant depinde în mare măsură de controlul formării anticorpilor.

Reacția antigen-anticorp poate fi privită ca un factor important și în etiopatogeneza poliartritei cronice evolutive (PCE) (*Vorlaender*). Se formează anticorpi împotriva țesuturilor proprii ale organismului, în special contra membranei sinoviale. Din aceasta, rezultă formarea de 7 S-gammaglobuline din limfocite; prin intermediul plasmocitelor se formează 19 S-gammaglobuline, factorul reumatoid, care reacționează ca un „anti-anticorp” cu 7 S-gammaglobuline prin formarea unui agregat, care la rindul lui este fagocitat de leucocite, ducând astfel la formarea așa-numitelor ragocite. Prin fagocitoză, respectiv liza acestor celule, se eliberează fermente care mențin în continuare inflamația și autoantigenitatea (*Chlud* și colab.). Limfocitele și plasmocitele sinoviale inflamate formează la rindul lor anticorpi, astfel că există în mod cert o acțiune reciprocă între inflamație și procesele imunologice, fapt descris în amănunțime de *Seidel*.

Astfel, fenomenele clinice din cadrul bolilor autoagresive sînt declanșate în primul rînd prin sistemul plasmocelular. În cadrul acestui proces anticorpii circulanți duc la tipul imediat, iar limfocitele imunoactive la tipul întîrziat al reacției antigen-anticorp.

În ultimii ani, s-a ivit posibilitatea de a interveni din ce în ce mai activ în aceste mecanisme, ajungîndu-se astfel la o ameliorare impresionantă a unor boli autoimune. Medicamentele care pot fi luate în considerare sînt de natură foarte diferită, în parte fiind glucocorticoizi, în parte metale grele, dintre care în primul rînd aurul. O parte este formată de marea grupă a medicamentelor care sînt folosite și în terapia neoplasmelor maligne. Printre ele găsim pe lângă substanțele nucleotoxice mai ales substanțe antimitotice. De asemenea trebuie relevată și importanța mare a serului antilinfocitar.

Acțiunea generală a substanțelor imunosupresive se exercită în două direcții principale, prima constă în inhibarea diviziunii celulare prin influențarea sintezei de ADN și ARN, prin aceasta fiind frînată mai ales faza inductivă a formării de anticorpi. Aceasta se repercută atît asupra reacției imediate, cît și asupra celei întîrziate. Fenomenele imunologice însoțitoare, ca de exemplu factorul reumatoid sau factorii antinucleari nu sînt antrenate de la început în acest proces. Prin substanțele imunosupresive poate fi totuși influențată *in vitro* stimularea limfocitelor prin fitohemaglutinină. Astfel, răspunsul imunologic este înlăturat și survine o inhibiție a stadiilor proliferative ale reacției imunologice cu afectarea considerabilă a celulelor pironinofile. În esență are loc un atac asupra celulelor care constituie aparatul imunologic.

Efectul asupra formării de anticorpi s-a putut demonstra și prin administrare de antigeni și de substanțe imunosupresive, în experiențe pe care *Brodehl*, le-a efectuat pe iepuri alergizați contra eritrocitelor de oaie și a bacililor tifici omorîți. După o administrare prealabilă de TEM s-a constatat o reducere la jumătate a

numărului de leucocite, o întârziere în timp și o inhibiție parțială a formării de anticorpi contra eritrocitelor, în timp ce anticorpii contra bacililor tifici și apariția aglutininelor în singe au fost influențați numai într-o mică măsură. Cealaltă direcție principală a efectului este alterarea directă a celulelor.

În principiu mecanismele de acțiune ale substanțelor imunosupresive se aseamănă, deși există și unele deosebiri individuale. Substanțele alchilante prezintă o mare afinitate față de zonele electro-negative din moleculă. Ele influențează formarea ARN-lui prin denaturarea proteinelor și a acidului nucleic, afectând de asemenea procesul de transformare a limfocitelor mici imunocompetente în celule mari pironinofile. Prin liza celulelor plasmactice se ajunge la o inhibare a sintezei masei celulare (*Keitel* și colab.), în parte se produce și o denaturare directă a proteinelor și a acizilor nucleici.

Prin derivații de iperită cum ar fi ciclofosfamida (*Endoxan*) este posibilă inhibarea fenomenului Arthus și micșorarea răspunsului imunologic la infecția bruceleică la șobolani; în schimb inhibarea reacției imunologice contra bacililor tbc. nu se produce. Iperita (dicloretilsulfid) nu influențează apărarea cobailor împotriva bacililor tbc. virulenți. TEM-ul practic nu influențează formarea primară de anticorpi. Importantă este și observația că în splină se deprimă proliferarea plasmocitară și nu se observă influențarea fagocitozei particulelor de cărbune din partea granulocitelor. Trenimonul reacționează cu nucleoproteinele prin ruperea inelului etilenimic sub tensiune. Survine o activare a ribonucleazelor. Aceste efecte pot fi suspendate prin amida acidului nicotinic. Prin reducerea infiltratelor limfoplasmocelulare în membrana sinovială se produce o scădere a formării de 7 S-anticorpi și a factorului reumatoid. De aici rezultă scăderea imunoagregatelor și prin aceasta o reducere a fenomenului de fagocitoză, care întreține atât inflamația, cât și autoantigenizarea (*Prohaska* și *Chlud*).

Prin Novembichin (2-cloropropil-bis-(2-cloretil-)-amin) se poate inhiba la iepuri producerea de anticorpi contra eritrocitelor de oaie, administrând o doză unică la scurt timp după injecția de antigen, în timp ce administrările repetate de doze mici nu au efect (*Schwarz* și *André*).

Antimetaboliții au de asemenea o acțiune largă. Antagoniștii acidului folic influențează aparatul imunologic (limfocite, plasmocite), blochează reductaza acidului dihidrofolic precum și sinteza de purine și pirimidine. Survine și scăderea sintezei timinei, a ADN-lui și a producției de IgG.

Antagoniștii purinelor, în special 6-merkaptopurina, nu influențează sinteza normală, inhibă însă faza inductivă a formării anticorpilor și blochează răspunsul imunologic primar. Are loc inhibarea formării derivaților de purină — acid adenilic și guanilic —, precum și a sintezei de purină din precursorii simpli, cum ar fi formiatul și glicerina. Se observă și inhibarea transformării inozinei în acid adenilic, precum și fixarea grupelor sulfhidrilice.

Azotioprina inhibă formele de reacție întârziată, iar antagoniștii pirimidinei acționează în esență printr-o inhibare a sintezei ADN; aceasta se referă și la mitomicină. În schimb, actinomicina are o acțiune de inhibiție specifică asupra sintezei ARN. Intervine o împiedicare a imunizării primare și o lipsă a răspunsului secundar la injecții repetate de antigen.

Dintre așa-numitele antireumatice, clorochinul inhibă biosinteza ADN și ARN, frânează fagocitoza, scade fermentii și creșterea culturilor de fibroblaști. În același timp, se observă o acțiune stabilizatoare asupra încărcării electrice a lizozimilor.

Punctul de atac este citoplasma, blocându-se grupele sulfhidrilice. Artrita produsă prin formalină sau ulei de croton se poate preveni experimental. Clorochinul acționează și asupra metabolismului mucopolizaharidelor. Incorporarea sulfului activ în țesutul conjunctiv se poate micșora prin Clorochină, iar ADN-ul poate fi stabilizat împotriva influențelor enzimactice și a denaturării prin căldură.

Aurul este depozitat în sistemul reticular, în 90% în ficat. O mare parte din această substanță se depozitează însă în țesuturile inflamate. Metalul greu produce o stabilizare a lizozimilor, având loc o inhibiție a enzimelor lizozomiale. Afară de aceasta se constată o scădere în producția de gammaglobulină.

D-Penicilinamina produce probabil depolimerizarea complexului IgG—IgM, dar acționează în mod cert și printr-o inhibare directă asupra producerii factorului reumatoid, prin atacarea celulelor imunocompetente.

Glucocorticoizii acționează pe de o parte printr-o influențare catabolică a metabolismului proteic, iar pe de altă parte duc la o reducere a țesutului limfoplasmodic și la o blocare, respectiv la o întârziere a formării de ADN-polimeraze.

Pe lângă felul medicamentului, foarte important este și momentul aplicării terapiei. Astfel, s-a arătat experimental, că o reducere a formării anticorpilor are loc atunci când medicația imunosupresivă se administrează înainte sau concomitent cu antigenul (*Deohtar* și colab., *Hitzig*). Dintre numeroasele substanțe cercetate, *Nathan* și colaboratorii lui au găsit că 6-merkaptopurina, 6-tioguanina și derivații S-imidazolici ai acestora sînt cei mai activi, iar în afară de acestea s-a constatat că acțiunea acestor substanțe este potențată în caz de stimuli antigenici progresivi, adică s-a observat o dependență față de activitatea procesului morbid. Asupra importanței dozei și timpului de aplicare a antigenilor și a substanelor imunosupresive, au atras atenția și *Schwarz* și colab. Efectele unei astfel de terapii au fost comunicate de *Lampert*. El a întreprins cercetări hematologice la copii cu afecțiuni reumatice, care au beneficiat de o terapie de durată cu ametopterină. 6-merkaptopurină, respectiv sulfat de vincristină, găsind că alterarea de bază constă în schimbările megaloblastice ale nucleilor, cu dublarea conținutul de ADN. Contrar eritropoezei normale, înglobarea ADN-ului a fost mai mică decît creșterea volumului.

Page a găsit la iepuri o inhibiție a răspunsului celulelor mononucleare la o inflamație nespecifică, dacă animalele au fost tratate în prealabil cu 12 mg/kg de 6-merkaptopurină, timp de 6 zile sau 3 mg/kg timp de 40 de zile. Pentru a obține un rezultat similar la exudate de natură inflamatorie, a fost necesară o aplicare de 20 mg/kg corp. Tot astfel, la bolnavii tratați timp de 20 de zile cu 6-merkaptopurină s-a constatat o depresiune completă a celulelor mononucleare.

Sterzel și *Holub* după aplicare de 6-merkaptopurină au găsit la iepuri grunji de substanțe eozinofile cu macrofagi, limfocite, precum și proliferări de fibroblaști și hemoragii. În splină ei au constatat o scădere a pulpei albe, iar în rinichi, în suprarenală și în parenchimul hepatic au apărut necroze și proliferări celulare interstițiale. *Sigidin* a demonstrat că corticosteroidii au o acțiune frenatoare asupra sistemului limfatic imunocompetent, pe lângă o stabilizare a membranei lizozomiale, în timp ce Clorochinul acționează evident numai asupra sistemului limfatic.

Legat de aceste probleme, am efectuat o serie de cercetări experimentale. Am pornit de la acțiunile secundare ale prednisonului. Între acestea trebuie amintită în special inhibiția fagocitozei leucocitare. *Möse* a putut demonstra în cercetări de mare amploare că efectul inhibitor leucofagocitar poate fi împiedicat printr-un acid, acesta fiind acidul aristolochic (AA). Acesta se găsește în planta numită *Aristolochia clematidis* și este un 3,4-metilen-dioxi-8-metoxi-10-nitro-1-acid fenantrencarbonic. Dacă această substanță este adăugată la leucocite normale, puterea lor de fagocitare va crește. Astfel se explică și acțiunea favorabilă în îmbolnăvirile inflamatorii bacteriene a acestei plante cunoscute încă din antichitate.

Pe baza acestei acțiuni ca și a asemănării dintre formulele chimice ale ambelor substanțe, *Orzechowski* presupune că AA ar fi un antagonist posibil al glucocorticoizilor.

Astfel s-a ajuns să se cerceteze dacă și alte acțiuni ale prednisonului pot fi anihilate prin AA. Aici, ca obiect de cercetare ne-a servit modificarea numărului plasmocitelor din măduva osoasă a șobolanului sub acțiunea prednisonului, clorochindifosfatului, a aurului coloidal și a Trenimonului. La șobolani albi, cu o greutate medie de 200 g, s-a administrat intraperitoneal 5 mg/kg corp prednison. În același fel s-a administrat clorochindifosfatul și aurul coloidal (*Sanocrysin*), pe cînd trisetileniminobenzochinonul (*Trenimon*) a fost aplicat în doză de 0,02 mg/kg. Doza de AA a fost de 0,005 mg/kg corp. Animalelor de control l-i sa injectat intraperitoneal o cantitate corespunzătoare de ser fiziologic. În ziua 7-a după injecție,

animalele au fost sacrificate, măduva osoasă a femurului preparată, executându-se un frotiu, care a fost colorat și analizat. Numărul celulelor a fost raportat la 500 de celule ale leucopoeziei și în fine a urmat o recalculare la 100 de leucocite.

Aceste cercetări au demonstrat că la animalele de control numărul de plasmocite raportat la 100 de celule ale leucopoeziei a fost de 19,4. După o singură aplicare de AA s-a găsit un număr de 17,4 de plasmocite, diferența față de animalele de control nefiind statistic semnificativă. Sub influența prednisonului numărul plasmocitelor a scăzut la 6,45%. În testul „t” al lui Student această diferență a fost foarte semnificativă ($p < 0,001$). La aplicarea concomitentă de prednison și AA s-a găsit un număr de 20,1 plasmocite. Această valoare este de asemenea statistic nesemnificativă față de valorile normale. Celelalte medicamente administrate singure, au produs scăderi ale plasmocitelor în mod identic cu prednisonul. Valorile corespunzătoare de plasmocite la 100 de celule ale leucopoeziei au fost pentru clorochindifosfat 2,60, pentru Sanocrysin 4,62 și pentru Trenimon 2,56. Scăderea numerică a plasmocitelor cauzată de prednison se poate suspenda prin administrarea de AA, pe cînd față de celelalte medicamente AA-ul rămîne inactiv. Numărul plasmocitelor a fost la clorochin și AA de 5,2 100 leucocite, la Sanocrysin și AA de 2,7, iar la Trenimon și AA de 3,2/100 leucocite.

Aceste rezultate demonstrează nu numai faptul că acțiunea glucocorticoidă asupra plasmocitelor din măduva osoasă a șobolanului poate fi suspendată prin AA, ci ele denotă totodată că acțiunea similară — scăderea plasmocitelor — datorită celorlalte medicamente trebuie să survină prin mecanisme diferite. Aceleași experiențe sprijină ipoteza că AA-ul ar acționa ca antagonist al glucocorticoizilor.

Aceste cercetări demonstrează că medicamentele testate acționează în mod similar, deși pe căi diferite și astfel trebuie integrate global în grupa „imunosupresivelor”.

Aplicarea practică a acestor concepții despre imunosupresive a fost urmărită la 48 de bolnavi, dintre care 30 de femei și 18 bărbați între 37—71 de ani. Dintre aceștia 46 sufereau de P.C.E., 1 de lupus eritematos diseminat, iar 1 de sclerodermie în fază incipientă; 42 se găseau în fazele III și IV, după Tichy, Seidel, Heideilmann. 38 începau un grad de activitate mediu și ridicat. La acești bolnavi s-a executat hemaglutinația (HAR) după Podliachouk în modificarea lui Harboe, testul de fixare a latexului (LFT) după Singer și Plotz, iar evaluarea proteinei C reactive (CRP) după Anderson și McCarthy. Ca substanță imunosupresivă, s-a aplicat citostaticul Trenimon, medicamentul administrîndu-se sub forma unei terapii intermitente de șoc, conform recomandărilor lui Druckrey, Siering și alții.

La fiecare caz s-a administrat cite 1 mg, la interval de 8—10 zile. Dozele totale s-au situat între 4—7 mg. La 44 bolnavi suferind de P.C.E. din cauza gradului ridicat de activitate, s-a aplicat concomitent un tratament cu prednison în doze rapid descrescînde. Doi bolnavi au primit în loc de prednison zilnic 100 mg indometazin, respectiv 3000 mg de salicilamidă. Deja după 10—14 zile de tratament s-a obținut o regresie considerabilă a semnelor de activitate, precum și a semnelor subiective generale caracteristice bolii. După terminarea tratamentului, s-a ajuns la 35 din cei 48 de bolnavi la o scădere a activității cu 1—2 grade, ceea ce corespunde unei cote de ameliorare de 73%. La acești bolnavi s-a obținut deci un rezultat bun sau foarte bun.

La majoritatea bolnavilor (20 din 36) la care s-a efectuat controlul HAR-lui, s-a remarcat o scădere de 1—5 grade titrimetrice; la 11 titrul a rămas neschimbat și numai la 5 s-a ridicat cu 1—2 grade. Înaintea începerii tratamentului, la CRP s-au constatat 36 de probe pozitive și 12 negative, iar după tratament 17 pozitive și 31 negative; în timp ce LFT nu a prezentat schimbări evidente. VSH a scăzut în medie în prima oră, de la 41,2 la 21,4 mm. Efectele secundare ale terapiei imunosupresive au fost minore și au constat în 7 cazuri din leucopenii sub 1000/mm³, în 3 cazuri în granulocitopenie, în parte în flebite la locul de injecție a Trenimonului.

Dölitzscher a executat la P.C.E. testări intracutanate cu gammaglobulină umană și a controlat dacă influențarea prin antireumatice se datorește unei acțiuni antiflogistice, respectiv unui efect imunosupresiv. Au fost studiate din acest punct

de vedere: acidul salicilic și derivații lui, compușii pirazolonici, indometazina (Amuno), prednisonul, clorochinul, aurul (Sanocrysin) și trietileniminobenzochinonatul (Trenimon). La 253 de bolnavi nu s-a putut pune în evidență o influențare în sens pozitiv sau negativ a testelor cutanate prin terapia aplicată. Acest test, efectuat cu gammaglobulină umană nativă sau agregată, nu se pretează de altfel la punerea în evidență a factorului reumatoid.

La bolnavii cu P.C.E. în timpul tratamentului antiflogistic sau imunosupresiv au apărut schimbări în stocarea fierului în organism. Eitner a găsit la aplicarea medicamentelor sus-amintite o reducere a cantităților mai ridicate din depozitele de fier. Singură Sanocrysin a cauzat o scădere generală a fierului din depozite. Valorile sideremiei au fost găsite la toți bolnavii mai ridicate după tratament. Pe baza acestor cercetări, se poate conchide că anemia constatată la numeroși bolnavi suferind de P.C.E. apare pe terenul unei tulburări în formarea hemoglobinei.

În fine, în clinica noastră au fost efectuate de către Dietze, cercetări asupra funcției măduvei osoase la 30 de persoane de control și la 20 de bolnavi tratați cu o terapie de șoc cu Trenimon. S-a constatat că în timpul unei astfel de terapii, scăderea inițială a leucocitelor în singele periferic la 2 ore după excitarea cu substanța pirogenă Pyricol nu a avut loc și că raportată la valorile inițiale, creșterea maximă a leucocitelor a ajuns numai la 154%, pe cînd la persoanele de control a atins 182%.

Toate aceste studii și cercetări au demonstrat importanța terapiei imunosupresive. Felul medicamentelor întrebuițate în acest scop nu ni se pare de o importanță decisivă, cu toate că recunoaștem acțiunea deosebit de bună a azotioprinei.

Mai importantă este întrebuițarea „țintită” și ponderată a acestor medicamente — de asemenea amintim durata terapiei, care trebuie să fie suficient de lungă — spre a se ajunge, pe de o parte la o frinare eficientă și susținută a formării anticorpilor, iar pe de altă parte la evitarea apariției unui efect „rebound”. Din acest punct de vedere, terapia sus-amintită poate tocmai în afecțiunile reumatice își va păstra valoarea deosebită.

Sosit la redacție: 19 decembrie 1970.

Bibliografie

1. BRODEHL J.: Z. Immunitätsforsch. u. exper. Therapie (1956), 113, 343; 2. CHLUD K., PROHASKA E., PFALLER C.: Z. Rheumaforsch. (1967), 26, 250; 3. CHLUD K., PROHASKA E., ZETTLHOFER J., PFALLER C., FRIZA B.: Münch. Med. Wschr. (1968), 110, 88; 4. DEODHAR S. D., CRIDE G., SCHOFIELD P. F.: Lancet (1968), 168; 5. DIETZE CH.: Diss. Jena, 1969; 6. DÖLITZSCHER G.: Diss. Jena, 1969; 7. DRUCKREY H. D., STEINHOFF M., NAKAYAMA, PREUSSMANN R., ANGER K.: Beiträge zum Dosisproblem in der Krebs-Chemotherapie und zur Wirkungsweise des Endoxans. Chemotherapie maligner Tumoren, 3. Bielefelder Symposium, 1962; 8. DRUCKREY H. D.: Dtsch. Med. Wschr. (1963), 88, 651; 9. EITNER K.: Diss. Jena, 1969; 10. HITZIG W. H.: Praxis (Bern), (1966), 3, 61; 11. KEITEL W., KLEINE F. D., WERNER R.: Z. ärztl. Fortbild. (1968), 62, 409; 12. LAMPERT F.: Z. ges. exp. Med. (1967), 144, 189; 13. MÖSE J. R.: Therapiewoche (1967), 35, 1198; 14. NATHAN H. C., BIEBER S., HITCHINGS G. B., HITCHINGS G. H.: Proceed. Society f. experiment. Biology and Medicine (1961), 107, 796; 15. ORZECOWSKI G.: Comunicare personală; 16. PAGE A. R.: Federation Proceeding (1962), 21, 276; 17. PROHASKA E., CHLUD K.: Wien. Z. Inn. Med. (1968), 49, 26; 18. PROHASKA E., CHLUD K., PFALLER C.: Z. Rheumaforsch. (1968), 27, 38; 19. SCHWARTZ R., ANDRÉ J.: Mechanism of cell and tissue damage... II nd international Symposium of Immunopathology. Benno et Co., Basel—Stuttgart, 1961, 385; 20. SCHWARTZ R., STACK J., DAMESHEK W.: Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine (1958), 99, 165; 21. SCHWARTZ R., EISNER A., DAMESHEK W.: J. Clin. Invest. (1959), 38, 1394; 22. SEIDEL K.: Z. Inn. Med. (1968), 23, 545; 23. SIERING H., ABENDROTH K.: Tagungsber. d. Ges. f. Inn. Med. d. DDR (1969), 6, 155; 24. SIERING H., ABENDROTH K.: Naturwiss. (1967), 54, 541; 25. SIERING H., REINHARDT M.: Z. Inn. Med. (1966), 21, 264; 26. SIERING

H., REINHARDT M.: Arzneimittelforsch. (1968), 18, 1182; 27. SIERING H., REINHARDT M., SEIDEL K.: GBK Mitteilungsdienst (1967), 4, 643; 28. SIGIDIN J. A.: Ther. Arkh. (1967), 39, 44; 29. STERZL J.: Folia microbiologica (1960), 5, 364; 30. STERZL J., HOLUB M.: Folia biologica (1958), 4, 59; 31. TANNER E., SIERING H., KEIL E.: Wiss. Z. d. Univ. Jena, Math.-Nat. R. (1969), 18, 759; 32. VORLAENDER K. O.: Verh. d. Dts. Ges. f. Path. 46. Tag. Stuttgart, 1962, 158; 33. VORLAENDER K. O.: Ärztl. Praxis (1966), 17, 961; 34. VORLAENDER K. O.: Therapiewoche (1967), 17, 1328.