

CERCETĂRI PRECLINICE PRIVIND ACȚIUNEA PROTECTOARE A TROFOPARULUI FAȚĂ DE UNELE EFECȚE SECUNDARE TOXICE ALE MEDICAȚIEI ANTICANCEROASE

Gh. Feszt, I. Jung, Romanța Lupșa, A. Biró

În zilele noastre când medicația citostatică câștigă o pondere tot mai mare în terapia anticancerasă, se acordă o atenție sporită și atenuării sau prevenirii efectelor secundare-toxice, foarte serioase, ale acestei medicații. În acest context ne-a trezit interesul preparatul Trofopar, un medicament original românesc, produs de extracție animală cu structură peptidică, care exercită efect protector față de diferite noxe hepatotoxice (Timar 1979, 1983). Uray și colab. (1986) au semnalat acțiunea hematoși hepatoprotectoare a Trofoparului la șobolani tratați cu ciclofosamidă sau iradiați cu doze subletale. Autorii au constatat că Trofoparul crește semnificativ încorporarea radiofierului în măduva osoasă a animalelor radio- sau chimiolezate și realizează o refacere aproape completă a țesutului hepatic distrofic.

Pornind de la aceste constatări, ne-am propus să cercetăm influența Trofoparului asupra toxicității hematologice și hepatice a trei citostatice având mecanism de acțiune diferit: daunorubicina, metotrexatul și ftorafurul. Primul este un antibiotic antineoplazic cu structură antracilinică, al doilea se cunoaște ca cel mai important antagonist de acid folic, al treilea fiind un antimetabolit pirimidinic, derivat de 5-fluoruracil.

În experiențele de față am urmărit modificările numărului leucocitelor și hematiilor în singele periferice, leziunile histopatologice ale ficatului, precum și mortalitatea animalelor de experiență. La cercetări am folosit 222 șoareci albinoși, masculi, adulți, proveniți de la Biobaza I.M.F. Tirgu-Mureș.

Materiale, metode și rezultatele experiențelor

1. *Experiențele cu daunorubicina (DNR)* au fost efectuate cu preparatul Cerubidine, pe 6 loturi a câte 10 șoareci. Dintre 2 loturi martore unul a fost injectat zilnic timp de 9 zile cu Trofopar în doză de 40 mg/kgc pe cale i.p., altul a primit placebo: 10 ml/kgc ser fiziologic i.p. Patru loturi au fost intoxicate cu DNR, administrată de 3 ori, în zilele a 3-a, 5-a și 7-a ale experienței, pe cale i.p., la câte 2 loturi în doză de 5 mg/kgc respectiv 7 mg/kgc. Dintre loturile injectate cu aceeași doză de DNR, unul a fost tratat zilnic cu 40 mg/kgc Trofopar i.p., iar celălalt cu placebo. În ziua a 10-a s-a efectuat numărătoarea leucocitelor și eritrocitelor în singele din virful cozii și s-au prelevat fragmente din ficat, fixate în formalină 10 %, pentru examen histopatologic.

Mortalitatea animalelor a fost de 15 % la doza de 5 mg/kgc și 35 % la doza de 7 mg/kgc DNR, sucombările repartizându-se în proporție aproximativ egală în loturile placebo și cele tratate cu Trofopar.

In singele periferic DNR in doză de 5 mg/kgc a produs o leucopenie marcată (media: 3066 ± 1402 leucocite/mm³), efect care a fost atenuat considerabil prin Trofopar (media: 6371 ± 664 leucocite/mm³). Efectul leucopenizant al dozei de 7 mg/kgc de DNR nu a fost modificat semnificativ de Trofopar (vezi fig. nr. 1).

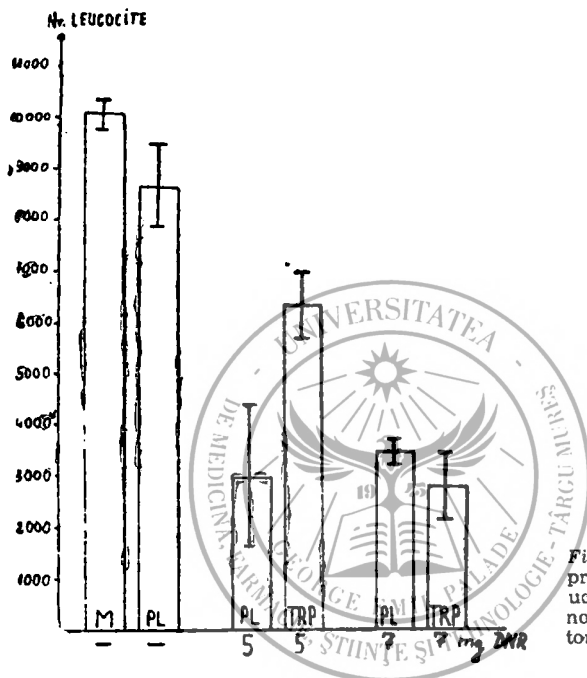


Fig. nr. 1: Influențarea prin Trofopar (TRP) a leucopeniei cauzate de daunorubicină (DNR); M=maritor, PL=placebo; medii \pm ES

Numărul eritrocitelor nu a prezentat o scădere semnificativă după DNR, influența Trofoparului fiind tot nesemnificativă.

La examenul histopatologic al ficatului pe secțiuni colorate cu hematoxilină-eozină și reacția PAS, s-au remarcat leziuni distrofice relativ moderate ale hepatocitelor, cu discarioză și uneori distrofie vacuolară a citoplasmei. Trofoparul asociat la DNR a determinat semne de regenerare evidentă, apărind multe hepatocite binucleate, nuclei măriți și nucleoli proeminenți, în timp ce leziunile distrofice erau discrete sau absente, iar conținutul de glicogen al celulelor hepatice a sporit.

2. *Experiențele cu metotrexat (MTX)* s-au efectuat în două serii, pe 18 loturi a câte 6 șoareci, din care 2 loturi martore. În prima serie experimentală MTX a fost administrat în doze mai mici decât DL 50, injectându-se 70, 80, 90 mg/kgc pe cale i.p. în ziua a 4-a a experienței. Aceleași doze au fost administrate la câte 2 loturi de animale, unul primind placebo, iar celălalt fiind tratat cu Trofopar 40 mg/kgc i.p., timp

de cite 3 zile înainte și după administrarea de MTX. În seria a doua schema de tratament a fost identică, dar dozele de MTX au fost mai mari: 70, 100, 130, 160, 190 mg/kgc. În ziua a 8-a s-a efectuat numărarea elementelor figurate ale sîngelui și s-a prelevat material pentru prelucrare histopatologică.

Mortalitatea: din 102 șoareci tratați au sucombat în total 47, majoritatea sucombărilor, anume 37, survenind în loturile tratate cu MTX în doze mari (100—190 mg/kgc). În acest contingent mortalitatea animalelor cu placebo a fost de 87,5% iar a celor protejate cu Trofopar a fost doar 66,6 %.

În singele periferic numărul eritrocitelor nu s-a modificat apreciaabil în nici unul din loturile experimentale. În schimb MTX deja în doze de 70—90 mg/kgc a produs o leucopenie marcată, valorile medii cifrînduse la 4566 ± 1049 , 3120 ± 786 , 2333 ± 733 leucocite/mm³. Trofoparul a atenuat considerabil efectul leucopenizant al dozelor de 70—80 mg/kgc MTX, dînd valori medii de 7800 ± 1591 și 5250 ± 1217 leucocite/mm³, dar a influențat în măsură mai mică efectul dozei de 90 mg/kgc (media: 4400 ± 2200 leucocite/mm³). Leucopenia provocată de MTX în doze de peste 100 mg/kgc nu a fost atenuată de Trofopar (vezi fig. nr. 2).

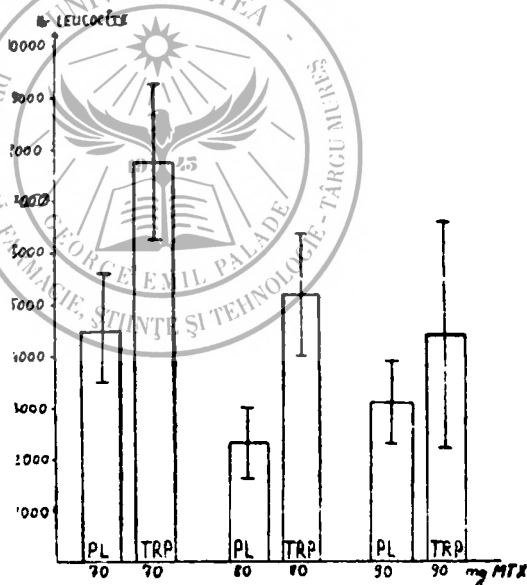


Fig. nr. 2: Influențarea prin Trofopar (TRP) a leucopeniei cauzate de metorexat (MTX); PL=placebo; medii ± ES

În ficatul animalelor intoxicate cu doze mici de MTX s-au observat leziuni distrofice parenchimatose mai puțin exprimate; la grupele tratate cu 100—130 mg/kgc MTX și placebo se prezintă distrofie parenchimatoadă cu discarioză evidentă și rare necroze unicelulare; la doza de

160—190 mg/kgc distrofia este mai exprimată, iar necrozele au un caracter microfocal. La animalele tratate cu MTX și Trofopar apare distrofie hepatocitară și uneori necroze unicelulare, dar fenomenele de regenerare sînt mai evidente și cantitatea de glicogen în hepatocite este sporită.

3. *Experiențele cu Ftorafur (FTR)* s-au efectuat pe 9 loturi de cîte 6 șoareci, cu o durată de 11 zile. FTR a fost injectat în zilele a 4-a și 7-a pe cale i.p. în doze de 200, 300, 400, 500 mg/kgc la cîte 2 loturi. Dintre loturile tratate cu aceleași doze de FTR, unul a primit placebo, altul Trofopar 40 mg/kgc i.p. în zilele 1, 2, 3 respectiv 5, 6 și 8, 9, 10 ale experienței. Al 9-lea lot a servit ca martor absolut.

Mortalitatea nu a prezentat deosebiri în funcție de tratament, înregistrîndu-se cîte un deces după FTR în doză de 500 mg/kgc atît în lotul placebo cît și în cel tratat cu Trofopar.

Numărul eritrocitelor a scăzut după administrarea de FTR; Trofoparul a contracarat eritropenia provocată de FTR în doze de 200 și 300 mg/kgc, neîntreținînd însă efectul dozelor de 400 și 500 mg/kgc.

Numărul leucocitelor a scăzut nesemnificativ după 200 mg/kgc FTR, dozele mai mari producînd o leucopenie mai evidentă. Efectul leucopenizant al dozei de 300 mg/kgc (media 10.800 ± 1745 leucocite/mm³ față de 18600 ± 3108 leucocite/mm³) a fost atenuat prin Trofopar (media 13800 ± 1658 leucocite/mm³), dar nu s-a constatat efect protector la animalele tratate cu 400 și 500 mg/kgc FTR (vezi fig. nr. 3).

Examenul histopatologic a pus în evidență leziuni hepatice de gravitate dependentă de doza FTR și de tratamentul cu Trofopar. În doza de 400 și 500 mg/kgc FTR provoacă necroze izolate sau microfocale multiple, cu acumulare de macrofage și granulocite, discarioze evidente, distrofie parenchimatooasă-hidropică marcată a hepatocitelor. Sub tratamentul cu Trofopar necrozele hepatocitare izolate sînt mult mai reduse, rare și inconstante, modificările distrofice ale citoplasmei lipsesc, conținutul de glicogen al hepatocitelor este sporit. Totodată semnele de regenerare sînt evidente, observîndu-se multe hepatocite binucleate, celule cu nuclei mai voluminoși și nucleoli proeminenți.

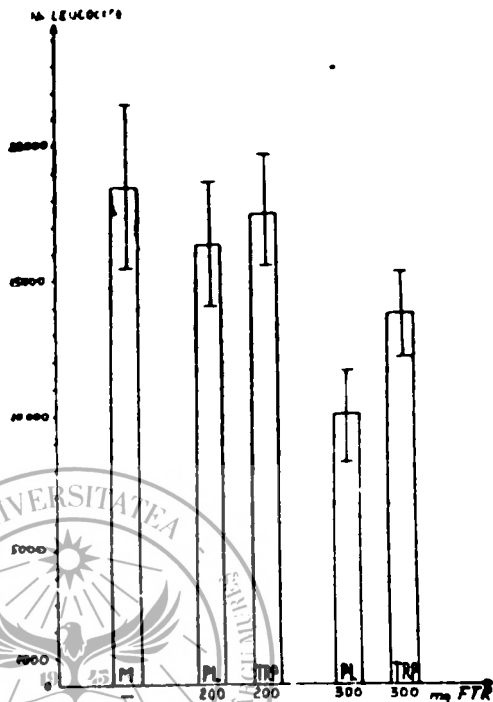
FTR în doza de 300 mg/kgc a produs necroză hepatocitară instantă, discarioză, distrofie parenchimatooasă și hidropică de grad diferit, remarcîndu-se și semne de regenerare a hepatocitelor. După asocierea de Trofopar necrozele izolate sînt mai rare, distrofiile lipsesc, iar semnele de regenerare sînt intense. Chiar și doza de 200 mg/kgc FTR produce necroze izolate și discarioză, în timp ce în urma asocierii de Trofopar necrozele lipsesc la toate animalele, glicogenul este sporit în hepatocite, iar semnele de regenerare sînt evidente.

Discuții și concluzii

După cum reiese din cele relatate, rezultatele experiențelor au fost în general concordante și concludente.

În legătură cu atenuarea efectelor leucopenizante și eritropenizante ale citostaticelor utilizate, menționăm în primul rînd că cifrele consem-

Fig. nr. 3: Influențarea prin Trofopar (TRP) a leucopeniei cauzate de Ftorafur (FTR); M=martor, PL=placebo; medii \pm ES



nate la număratoarea elementelor figurate ale singelui animalelor martore se încadrează în limitele normale publicate în literatura de specialitate (Soós și Lödi, 1954). Tulburările hematopoiezei reprezintă un corolar toxic obișnuit al chimioterapiei antineoplazice (Chiricuță, 1988; Pouillart, 1981; Calabresi și Parks, 1975). Datele obținute de noi pledează pentru acțiunea meduloprotectoare a Trofoparului, manifestată deopotrivă față de efectul leucopenizant al celor trei citostatice studiate, ca și față de efectul eritropenzant al Ftorafurului. Scăderea numărului de hematii în singele periferic sub acțiunea Ftorafurului poate fi corelată cu datele lui Fichtner și colab. (1981) care au descris o reticulocitopenie ca semn al tulburării de regenerare în eritropoeză. Astfel, observațiile noastre dovedesc influența protectoare a Trofoparului asupra hematopoiezei medulare atât la nivelul liniei leucocitare cit și a celei eritrocitare, cu condiția ca doza de citostatic să nu depășească o anumită limită.

În ce privește hepatotoxicitatea citostaticelor studiate, leziunile histopatologice cele mai pronunțate le-am constatat în ficatul animalelor tratate cu Ftorafur, tot la acestea fiind cea mai spectaculoasă și efectul protector al Trofoparului. Merită să fie subliniat faptul că efectul hepatociv l-am constatat la doze de FTR inferioare valorii DL 50, la doze care au produs tulburări hematologice relativ slabe. Trofoparul se

pretează pentru a contracara acest efect, mai ales în cazul dozelor moderate de Ftorafur. În experiențele de față DNR a avut un efect hepatociv mai slab decât FTR, acțiunea Trofoparului manifestându-se în acest caz mai ales prin stimularea fenomenelor regenerative. Hepatotoxicitatea metotrexatului în dozele utilizate s-a situat ca gravitate între FTR și DNR, prezentînd deosebiri interindividuale mari.

Menționăm că efectul hepatociv este o acțiune secundară toxică relativ tardivă a chimioterapicelor anticancerose (*Galatár*, 1978, 1983; *Pommier și Lokiec*, 1981; *Pouillart*, 1981; *Young și colab.*, 1981). Unele deosebiri în privința gravității leziunilor hepatice provocate de citostaticele studiate s-ar putea explica eventual prin împrejurarea că durata de 8—11 zile a experiențelor noastre, ar putea fi o perioadă relativ scurtă pentru dezvoltarea deplină a tulburărilor histologice în țesutul hepatic. Totuși, rezultatele examenelor histopatologice pun în evidență eficacitatea Trofoparului împotriva acțiunii hepatocive a celor trei citostatice utilizate.

Cele mai mari deosebiri le-am observat în privința influenței Trofoparului asupra mortalității animalelor de experiență sub efectul citostaticele. Trofoparul a diminuat semnificativ mortalitatea indusă de dozele mari de metotrexat, constatîndu-se supraviețuirea a 33,4 % din cele 24 animale tratate cu Trofopar + MTX, în timp ce procentul de supraviețuire a fost de numai 12,5 % la un număr identic de animale tratate cu placebo + MTX. De notat că în această serie de experiențe dozele de metotrexat au fost superioare față de DL 50 a substanței, egală cu 94 mg/kgc (*Gyermek*, 1957). În celelalte experiențe, în care ordinea de mărime a dozelor a fost mai redusă și procentul de mortalitate a fost mic, nu s-a putut pune în evidență influența protectoare a Trofoparului. Astfel, menționăm că DL 50 a DNR este 5,5 mg/kgc pe cale i.p. la șoareci (*Dănilă și colab.*, 1984), iar a Ftorafurului se cifrează între 500—1000 mg/kgc (*Karev și colab.*, 1972; *Fichtner și colab.*, 1981).

În concluzie se poate afirma că experiențele de față atestă acțiunea hepato- și hematoprotectoare a Trofoparului față de citostaticele studiate, precizîndu-se totodată și faptul că această acțiune este eficientă pînă la anumite doze ale chimioterapicelor citotoxice administrate. Eficacitatea față de trei citostatice avînd mecanisme de acțiune diferite, sugerează posibilitatea utilizării pe scară mai largă a Trofoparului ca medicament protector față de efectele hepato- și medulotoxice ale medicației anticancerose.

Bibliografie

1. *Chiricuță I.* (red.): *Cancerologie*, vol. II. Editura Medicală, București, 1988;
2. *Calabresi P., Parks R. E.*: *Chemotherapy of neoplastic diseases*. În: *Goodman and Gilman's The pharmacological basis of therapeutics*. 5th ed. Macmillan Publ., New York, 1975;
3. *Dănilă Gh., Cotrău M., Nechifor M.*: Ghid de date toxicologice. Editura Medicală, București, 1984;
4. *Fichtner J., Arnold W., Naundorf H.*: *Neoplasma* (1981), 28, 133;
5. *Gyermek L.*: *Toxicitási vizsgálatok*. În: *A kísérleti orvostudomány vizsgáló módszerei* (Kovács A. red.) vol. III. Akadémiai Kiadó, Budapest, 1957, 854;
6. *Galatár N.*: *Modificări tisulare cauzate de citostatice*. În:

Cancerul, chimioterapie actuală (Chiricuță I. red.). Enciclopedia oncologică vol. 12, Cluj-Napoca, 1983, 506; 7. Karev M. I., Blokhina N. G., Voznii E. K., Pershin M. P.: Neoplasma (1972), 19, 347; 8. Pouillart P.: Rev. Prat. (Paris), (1981), 31, 2999; 9. Pommier T., Lokiec F.: Rev. Prat. (Paris), (1981), 31, 3083; 10. Soós J., Soósné Lödi Irén: Kísérleti állatok biológiai és fiziológiai standard értékei. In: A kísérleti orvostudomány vizsgáló módszerei (Kovács A. red.) vol. I. Akadémiai Kiadó, Budapest, 1954; 11. Timar M.: Bazele terapiei raționale a ficatului. Ed. C.I.M.C.C.L., București, 1983; 12. Uray Z., Bara A., László G., Maniu M. și colab.: Oncologia (Buc.), (1986), 25, 287; 13. Young R. C., Ozols R. F., Myers E.: N. Engl. J. Med. (1981), 305, 139; 14. xxx: Trofopar. Produs original românesc hepatoprotector. Ed. C.I.M.C.C.L., București, 1979.
