

## CERCETĂRI ASUPRA REGENERĂRII ȘI PROLIFERĂRII TISULARE

### IV. Variațiile circadiene ale acțiunii letale a citostaticelor \*

dr. Eva Gyergyay-Malatszky

Datele din literatură, cit și cercetările noastre (1967, 1970) demonstrează că diviziunile mitotice prezintă o ritmicitate circadiană (din circa = în jur, dies = zi) în majoritatea țesuturilor. Studiul ritmului circadian al activității mitotice nu are numai aspecte pur teoretice, deoarece ea reflectă modificări ritmice în diferitele procese metabolice și endocrine din organism.

Paralel cu variațiile circadiene ale diviziunilor celulare există un ritm și în privința proceselor sintetice care în cursul interkinezei pregătesc mitoză următoare. Este cunoscut că substanțele alchilante și antimetabolice tulbură procesele metabolice ale nucleoproteinelor în cursul sintezei ADN și determină dereglarea activității mitotice a țesuturilor (Jdanov, 1955; Lario-nov și Presnov, 1958; Breivis, 1960). Luînd în considerare această acțiune a substanțelor alchilante, este clar că efectul lor va fi mai evident dacă sint aplicate în acea fază în care numărul celulelor aflate în faza respectivă este mai mare.

Avînd în vedere modificările ritmice în privința diviziunilor celulare, dar și a altor funcții tisulare, se poate presupune că sub acțiunea variațiilor factori experimentali se vor realiza reacții diferite în raport cu perioada zilei în care au fost aplicate. Pornind de la această ipoteză, în experiența de față am urmărit variațiile circadiene ale acțiunii letale a Clafenului și a Novoembichinului la șoarece.

#### Material și metodă

Experiențele au fost realizate pe loturi de cîte 50 de șoareci masculi adulți din tulpina Albino-Rosso, cu o greutate corporală de 22—24 g. Aceștia le-am administrat la orele 8,00, respectiv 20,00 doze variate de Clafen (Fabrica de antibiotice, Iași) și Novoembichinum (Leningradskii Himfarmzavod No. 1). Din Clafen am utilizat doze de 0,5, 0,25, 0,2 și 0,1 g kg, iar din Novoembichinum doze de 0,01, 0,005, 0,0025 și 0,001 g kg intraperitoneal în soluție de ser fiziologic. Loturile de animale au fost controlate de două ori pe zi, înregistrînd sucombarea șoarecilor. Observarea loturilor a fost continuată timp de 30—60 de zile de la administrarea citostaticului și a fost întreruptă numai cînd numărul animalelor care au supraviețuit a devenit constant.

#### Rezultate

Rezultatele experiențelor sînt prezentate în grafice.

Aplicînd Clafen în doza de 0,5 g kg după 35 de zile din lotul de dimineață a supraviețuit un șoarece, iar din lotul de seară patru. În cazul dozei de 0,25 g kg din lotul de dimineață au rămas în viață 16 șoareci, iar din lotul de seară 10. Aplicînd Clafenul în doza de 0,2 g kg în lotul de dimineață au supraviețuit 20 de șoareci, iar în lotul de seară numai 12. Diferența a fost și mai demonstrativă în cazul dozei de 0,1 g kg. În lotul de dimineață în cursul

\* Comunicare prezentată la 22 XII 1969 la ședința Cercului de hematologie, U.S.S.M. Filiala Tirgu Mureș.

celor 60 de zile de observație am avut întotdeauna un număr mai mare de șoareci în viață decât în lotul de seară. La sfârșitul experienței din lotul de dimineață mai trăiau 20 de șoareci (40 %), iar din lotul de seară 15 (30 %).

Rezultate similare au fost obținute și în experiențele realizate prin administrare de Novoembichinum. Doza de 0,01 g kg respectiv 0,005 g kg a cauzat pierea tuturor animalelor injectate dimineața, sucombarea loturilor de seară a fost puțin mai tardivă și după 30 de zile a rămas în viață 1, respectiv 6 șoareci. În cazul dozelor mai mici șoarecii injectați dimineața s-au dovedit a fi mai rezistenți. La doza de 0,0025 g kg au supraviețuit 17 șoareci (34 %), față de 6 (12 %) din lotul de seară, iar în cazul dozei de 0,001 g kg din lotul de dimineață 31 (62 %), față de 18 (36 %) din lotul de seară.

### Discuții

Experiențele realizate cu două substanțe citostatice, Clafen și Novoembichinum, arată că la doze corespunzătoare rezistența șoarecilor injectați dimineața este cu 20—25 % mai mare, decât a șoarecilor injectați seara. Aplicând doze mai mari, care determină practic moartea tuturor animalelor de experiență, diferențele dintre loturile de dimineață și de seară dispar. Se observă sucombarea mai rapidă a șoarecilor din lotul de dimineață.

Variațiile circadiene ale susceptibilității față de substanțele medicamentoase au fost semnalate pentru prima dată de Frey (1929) și ulterior confirmate de Anderson (1961), Menzel (1962), Reinberg și Ghata (1964) etc.

Reinberg și colab. (1964, 1965) au constatat existența unor variații circadiene în privința sensibilității față de histamină și de 48 80 (substanță eliberatoare de histamină). Aceste variații au prezentat un ritm invers față de ritmul corticosteroidelor plasmatici.

Există modificări de rezistență, respectiv de susceptibilitate față de diferiți agenți patogeni, în raport cu orele zilei. Administrând endotoxina, respectiv lipopolizaharidele de *Escherichia coli*, 70 % din animalele injectate la orele 16.30 sucombă, în timp ce animalele injectate la ora 00.30 supraviețuiesc (Halberg și Stephens, 1958; Halberg și colab., 1960). Quabaina (0,5 mg) în caz de administrare la ora 8,00 omoară 15 %, iar la orele 20,00 75 % a șoarecilor (Halberg și Stephens, 1959; Halberg și colab., 1959). Scheving (1967) a demonstrat că rozătoarele prezintă o sensibilitate variată în cursul zilei față de amfetamină, nicotină, pentobarbital și stricnină. Lidocaina, în doza de 65 mg kg ip., prezintă o acțiune convulsivă de 14 ori mai mare dacă este administrată la orele 21.00, decât la 15.00 (Lutsch și Morris, 1967). Observații similare au fost obținute cu numeroase alte substanțe ca: antigen somatic de *Brucella* (Halberg și colab., 1955); Librium (Marte și Halberg, 1961; Marte 1961); etanol (Haus și Halberg, 1959; Haus și colab. 1959; Halberg, 1960); ACTH (Haus și Halberg, 1960), acetilcolina (Jones și colab., 1963), methopyrone (Ertel și colab., 1963, 1964), fluothane (Matthews și colab., 1964), substanțe cancerigene (Haus și Halberg, 1962; Halberg, 1964), aurothioglucose (Wiepkema, 1966). Din analiza acestor date reiese că localizarea în timp a perioadelor de susceptibilitate minimă și maximă variază după natura factorului agresiv. Acest fenomen se explică, deoarece sistemele circadiene implicate în ritmurile de susceptibilitate sînt diferite.

În cazul aplicării dozelor letale de citostatice vor fi paralizate toate sistemele tisulare, care în condiții normale prezintă o autoreinnoire permanentă. Prin întreruperea diviziunilor celulare țesuturile respective prezintă o atrofiere marcată. În măsura în care aceste leziuni alterează funcțiile vitale și dau naștere la complicații hemoragice și infecțioase intervine moartea animalelor de experiență. Din experiențele de mai sus reiese că șoarecii sînt mai bine protejați față de acțiunea nocivă a substanțelor citostatice în orele de dimineață decât în orele de seară. Datele din literatură și experiențele proprii (1967,1970) arată că în cele mai multe țesuturi, la șoarece, valorile maxime ale indicelui mitotic se remarcă dimineața, iar valorile

EVA GYERGYAY-MALATINSZKY: CERCETĂRI ASUPRA REGENERĂRII ȘI  
PROLIFERĂRII TISULARE

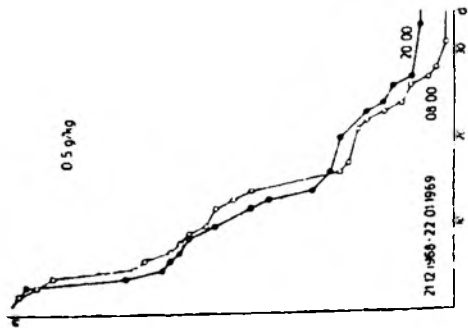


Fig. nr. 1

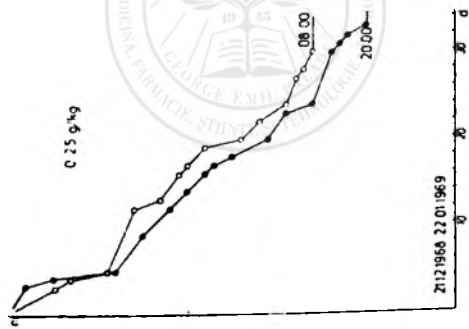


Fig. nr. 2

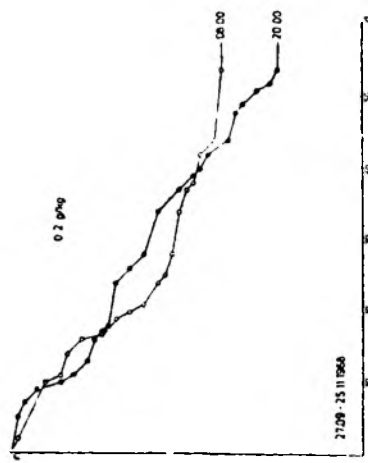


Fig. nr. 3

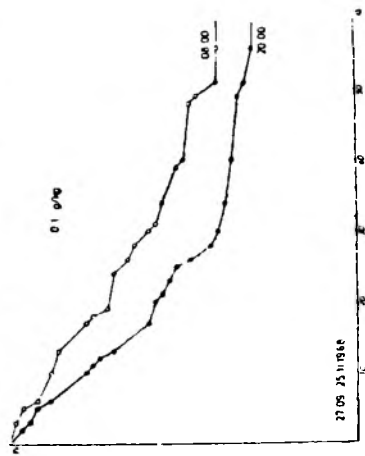


Fig. nr. 1—4: Curba de letalitate a șoarecilor după administrare intra-peritoneală de Clafen la orele 8 și 20 în doze de 0.5; 0.25; 0.2 și 0.1 g/kg

EVA GYERGYAY-MALATINSZKY: CERCETĂRI ASUPRA REGENERĂRII ȘI  
PROLIFERĂRII TISULARE

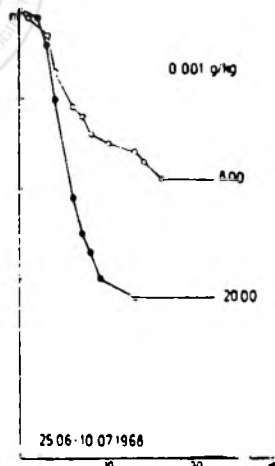
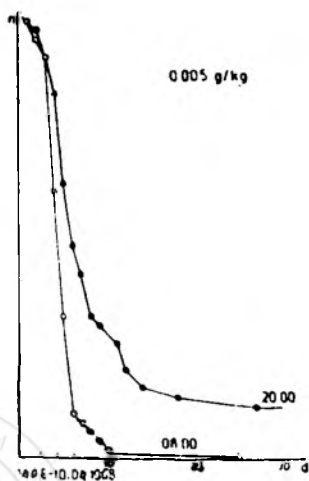
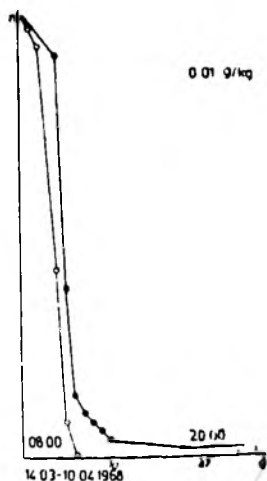


Fig. nr. 5—8: Curba de letalitate a șoarecilor după administrare intraperitoneală de Novoembichinum la orele 8 și 20 în doze de 0.01; 0.005; 0.0025 și 0.001 g/kg

minime seara și noaptea. Citostaticele nu acționează însă direct asupra diviziunii mitotice, ci în fazele intermitotice de pregătire pentru mitoză. În mod firesc în perioadele când un număr mai mare de celule se află în diviziune, un număr mai redus este în curs de pregătire pentru mitoză. Astfel, poate fi explicată rezistența mai crescută a animalelor în orele de dimineață. Toluși în acțiunea letală a citostaticelelor intervin și alți factori metabolici, iar în privința acțiunii asupra ciclului mitotic trebuie luate în considerare și observațiile în privința variațiilor duratei și ratei mitotice (Gyergyay-Malatinszky și Gyergyay, 1967; Gyergyay-Malatinszky, 1970).

Cercetările de mai sus nu pot fi privite drept terminate. Am ales în mod arbitrar două perioade diferite ale zilei, însă nu putem avea certitudinea că perioadele de rezistență minimă și maximă coincid într-adevăr cu aceste perioade. Pe de altă parte, considerăm că o simplă înregistrare a sucombării animalelor nu reflectă în mod fidel toxicitatea substanțelor utilizate, astfel este necesară stabilirea dozei letale 50 în diferitele ore ale zilei. Cercetările în acest sens sînt în curs.

Datele din literatură, cit și rezultatele experiențelor prezentate demonstrează că rezistența, respectiv susceptibilitatea unui organism față de o agresiune de natură și intensitate constantă variază periodic și previzibil în raport cu timpul. Astfel, se pot stabili acele perioade din cursul celor 24 de ore în care organismul este mai rezistent, respectiv mai susceptibil față de factorii patogeni. Toate aceste constatări ne îndreptătesc în formularea noțiunii de „tempus minoris resistentiae“, ca echivalent în timp al noțiunii în spațiu de „locus minoris resistentiae“.

Toate aceste observații arată că variațiile diurne în diferitele activități ale organismului au o importanță biologică, patologică și chiar terapeutică. În aplicarea medicamentelor, pe lângă criteriul strict farmacologic, trebuie ținut seamă de bioritmurile privind variațiile dozelor, de orarul de administrare și de alternanța perioadelor de pauză. Clarificînd tot mai mult mecanismele și manifestările acestor variații circadiene se vor putea alege perioadele cele mai optime pentru aplicarea tratamentelor.

Sosit la redacție: 6 februarie 1971.

#### Bibliografie

1. ANDERSON J. A.: Discussion, În „Circadian systems“ 39th, Ross. Conf. on Pediatric Res., S. J. Fomon and Ross. Lab., Columbus, Ohio, 1961; 2. BREIVIS P. V.: cit. de Dobrohotov V. N. și colab.: Biull. Exp. Biol. Med. (1964), 3, 97; 3. ERTEL R. J., HALBERG F., UNGAR F.: J. Pharmacol. (1964), 164, 395; 4. ERTEL R. J., UNGAR F., HALBERG F.: Fed. Proc. (1963), 211; 5. FREY S.: Dtsch. Z. Chir. (1929), 218, 366; 6. GYERGYAY-MALATINSZKY E.: Contribuții la studiul mecanismelor de reglare neuro-endocrine ale regenerării fiziologice. Teză de doctorat, I.M.F. Tîrgu Mureș 1970, 304; 7. GYERGYAY-MALATINSZKY E., GYERGYAY F.: Stud. Cercet. Embriol. Citol. ser. Citol. (1967), 4, 1, 59; 8. HALBERG F.: VII. Conf. Int. Soc. Stud. Ritm. Biol., Siena, Minerva Med., Torino, 1960, 20; 9. HALBERG F.: Murse ärztl. Fortbild. (1964), 14, 67; 10. HALBERG F., BITTNER J. J., GULLY R. J., ALBRECHT P. G., BRACKNEY E. L.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. (1955), 88, 169; 11. HALBERG F., HAUS E., STEPHENS A.: Fed. Proc. (1959), 18, 63; 12. HALBERG F., JOHNSON E. A., BROWN B. W., BITTNER J. J.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. (1960), 103, 142; 13. HALBERG F., STEPHENS A. N.: Fed. Proc. (1958), 17, 439; 14. HALBERG F., STEPHENS A. J.: Proc. Minn. Acad. Sci. (1959), 27, 139; 15. HAUS E., HALBERG F.: J. Appl. Physiol. (1959), 14, 878; 16. HAUS E., HALBERG F.: Ist. Int. Cong. Endocr., Copenhagen, Comm. 1960, 219; 17. HAUS E., HALBERG F.: Experientia (1962), 18, 340; 18. HAUS E., HANTON E. M., HALBERG F.: The Physiologist (1959), 2, 54; 19. JDANOV G. L.: cit. de Dobrohotov V. N. și colab.: Biull. Exp. Biol. Med. (1964), 3, 97, 20 JONES F., HAUS E., HALBERG F.

Proc. Minn. Acad. Sci. (1963), 31, 61; 21. LARIONOV L. F., PRESNOV M. A.: Arch. Path. (1958), 3, 1, 32; 22. LUTSCH E. F., MORRIS R. W.: Science (1967), 156, 100; 23. MARTE E.: Circadian systems, 39th Ross Conf. on Pediatric Res., Ross. Lab., Columbus, Ohio 1961; 24. MARTE E., HALBERG F.: Fed. Proc. (1961), 20, 305; 25. MATTHEWS J. H.: Canadian Anesthetist Society J. (1964), 11, 280; 26. MENZEL W.: Menschliche Tag-Nacht Rhythmic und Schichtarbeit, Benno Schwartz, Basel, 1962, 189; 27. REINBERG A., GHATA J.: Les rythmes biologiques, P.U.F., Ed. II., 1964, 128; 28. REINBERG A., GHATA J., SIDI E.: Ann. Endocrinol. (1964), 25, 670; 29. REINBERG A., SIDI E., GHATA J.: J. Allergy. (1965), 36, 273; 30. SCHEVING L. E.: J. Am. Med. Ass., (1967). 199, 5, 33; 31. WIEPKEMA P. R.: Nature (1966). 209, 937.

---