

ACȚIUNEA HIDRAZIDEI ACIDULUI IZONICOTIC ASUPRA CROMOZOMILOR UMANI ÎN CULTURI DE LEUCOCITE

dr. Livia Chioreanu, dr. C. Székely, Magda Babonits, dr. M. Chioreanu

Preocupările moderne, îndreptate în direcția studierii proceselor metabolice, în special a metabolismului medicamentos, au avut ca urmare și adunarea unor importante achiziții farmacogenetice, teoretice și practice, cu implicații în cunoașterea proceselor de degradare biologică a medicamentelor, sau contribuind chiar la elucidarea unor procese fiziologice sau patologice. Datorită acestui fapt recomandările recente ale OMS preconizează reevaluarea acțiunii biologice a substanțelor medicamentoase, în special a acelor nou introduse precum și a acelor medicamente mai vechi, insuficient verificate, la care experiența anilor sugerează posibile sau certe acțiuni toxice, dar mai ales cancerigene. Între medicamentele amintite de OMS, a căror acțiune necesită o verificare temenică pe variate modele biologice, figurează unele medicamente utilizate în terapia generală a gravidelor sau copiilor, dar mai ales acelea care se aplică în tratamente cronice repetate (28).

Cercetările noastre care au urmărit cunoașterea comportării cromozomilor în urma acțiunii HIN asupra leucocitelor umane, se înscriu printre recomandările OMS cu caracter prioritar, privind reevaluarea acțiunilor biologice ale acestui medicament. Semnalarea pentru prima dată, de către colectivul nostru, a unui efect de facilitare chimică prin HIN a unor virusuri latente dar potențial patogene la șoareci, precum și a efectului său mutagen asupra cromozomilor umani în cultura de leucocite, pare a fi originală (5).

Producerea unor anomalii cromozomiale prin acțiunea hidrazidei izonicotinică, asemănătoare cu acelea ale radiațiilor ionizante sau ale unor substanțe chimice, precum și cu unele modificări specific leucemice, ne permite a considera aceste rezultate ca fiind de importanță practică farmacogenetică, în consecință semnalarea și studierea lor se impun în spiritul recentelor preocupări de farmacovigilență.

Material și metodă

Efectul HIN asupra cromozomilor umani a fost urmărit pe culturi repetate de leucocite din sângele venos, recoltat de la aceleași persoane sănătoase de ambe sexe.

Cultivarea și evidențierea cromozomilor s-au efectuat prin metoda Fox și Zeiss (8), timp de 70—75 ore. La fiecare cultură s-a adăugat, cu 24—32 ore anterior prelucrării, o cantitate variabilă de HIN în doze cuprinse între 8 gama/ml la 2,5 mg/ml. Paralel cu aceste culturi de testare, s-au efectuat totdeauna și culturi de control cu leucocite de aceeași proveniență. Pentru fiecare cultură cromozomii au fost etalați pe un număr de 10 lame și apoi colorați cu soluția Giemsa.

Analiza numerică și structurală la microscop iar a doua oară pe microfotografii a inclus un număr de 1.000 figuri de metafază din care s-au ales pentru microfotografiere 160 seturi reprezentative. Confirmarea anomaliilor cromozomiale a fost făcută de fiecare dată și de către un observator secund.

Rezultate și discuții

Efectul HIN asupra cromozomilor umani în culturi de leucocite se manifestă prin apariția unor anomalii absente la cromozomii din culturile de control. Certitudinea generării prin HIN a acestor anomalii ne-o oferă posibilitatea obținerii acestora prin repetarea culturilor în condiții identice de cultivare.

În toate culturile tratate cu HIN, indiferent de doza administrată, s-au produs anomalii cromozomiale similare, care par sistematizate în special pe grupele mari de cromozomi din cariotip, A, B și C. Cromozomii grupei B, perechea a 4-a considerată de noi, sînt cel mai frecvent afectați de leziuni de grade variabile, care se situează aproximativ la aceleași nivele pe cei doi cromozomi omologi.

Leziunile cromozomiale determinate de HIN sînt următoarele: vacuole cromatidice, lacune cromatidice sau izocromatidice, punți intercromatidice, alungirea regiunii centromerice, translocații parțiale (incerte), cromozomi dicentrici, modificări ale gradului de compactitate cromozomială, cromozomi estompați cu contur voalat, cromozomi tumefianți, rearanjări cromozomiale, precum și genomutații exprimate prin apariția de seturi hiperdiploide cu 47 sau 48 de cromozomi.

Anomaliile cromozomiale de număr, formă sau structură, identice cu acele întîlnite de noi sub acțiunea hidrazidei izonicotinică, s-au raportat a fi produse în culturi de leucocite umane prin factori mutageni variați ca radiațiile ionizante (21, 30, 32), diverse substanțe chimice (1, 3, 5, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 17, 18, 19, 20, 22, 23, 24, 26, 27, 29, 34, 36), sau infecții virale (4, 5, 14, 15, 16, 25, 33, 34, 35). Două sindroame clinice, anemia Fanconi și sindromul Bloom (6, 31) se asociază în același timp atît cu o frecvență crescută a anomaliilor cromozomiale, generalizate și nesistematizate pe anumite grupe de cromozomi, cît și cu un potențial crescut de transformare malignă.

Între leziunile cromozomiale induse prin acțiunea HIN și altele, induse prin variate substanțe chimice sau infecții virale, există multe suprapuneri. Astfel 5-Bromodeoxiuridina, un analog al timinei, în culturi de leucocite umane, produce similar cu HIN prelungiri ale regiunilor centromerice cromozomiale, nesistematizate pe grupe sau perechi de cromozomi (15, 18). Citostaticele Luteoschirina (20) sau Mitomicina (24) au în culturile de leucocite un efect intens de fracturare cromozomială și formare de bride intercromatidice, rearanjări cromozomiale sau formare de cromozomi dicentrici. Unii estrogeni (Estradiol, Etililestradiol, Mestranol) și progestine (Progesteron, Megestrolacetat, Dimethistron etc.) cauzează variate anomalii cromozomiale în culturile de leucocite umane dar numai la anumite concentrații și într-un procent relativ redus (36).

Modificările aspectului cromozomilor umani în urma acțiunii HIN in vitro se aseamănă și cu constituția morfologică anormală a cromozomilor

animali, expuși in vivo sau in vitro la diverși agenți leucemogeni sau cancerigeni, reflectate prin imagini cromozomiale estompate (aspect de dezlinare) și existența bridelor intercromatidice. Aceste modificări ale aspectului cromozomilor considerate drept semne patognomonice, în cariotipul bolnavilor leucemici sînt prezente numai în fazele acute ale bolii și dispar în perioadele de remisie.

Sandberg și colab. (26) într-un studiu amplu asupra leucemiei relatează și alte modificări cromozomiale specific leucemice cum ar fi cromatidele tumefiate cu contururi imprecise sau variația aspectului de compactitate cromozomială, care poate sugera chiar o particularitate morfologică înnsăcută, proprie cromozomilor leucemici, probabil legată și accentuată prin acțiunea diferitelor medicamente antileucemice.

Precum am văzut mai sus, imagini cromozomiale similare aceloră considerate specific leucemice, au fost induse in vitro și la nivelul cromozomilor umani, prin administrarea HIN. Menționăm că leziuni cromozomiale identice, dublate de existența unor leziuni specific virale, ca pulverizarea cromozomială sau prezența de micronuclei, au apărut prin administrarea HIN și la șoarecii înbred C57B1/6 în experiențele noastre anterioare (5).

Concluzii

Cercetările noastre efectuate în culturile de leucocite, relevă certe potențialități mutagene ale HIN, manifestate în variate modificări structurale cromozomiale și seturi hiperdiploide.

Aceste modificări cromozomiale, deși nespecifice, întilnite atît în procesele neoplazice, cît și în urma acțiunii unor infecții virale, radiații ionizante sau diferite substanțe chimice, probabil la nivelul oricărui tip de celulă din organism, pot fi reversibile. Celulele care prezintă astfel de leziuni cromozomiale de regulă avînd o vitalitate scăzută, pot evolua ulterior în următorul sens: fie că vor suferi o eliminare progresivă a lor în timp; fie că vor constitui celulele sușă pentru unele clone celulare viabile, anormale.

Ca urmare, se impune o verificare atentă a acțiunii genetice a medicamentelor pentru a preveni orice „mutație iatrogenă“ cu urmări patologice pentru individ și descendenții săi.

Sosit la redacție: 9 ianuarie 1974.

Bibliografie

1. Arrighi F. A.: Exp. Cell Res. (1965), 39, 1, 305; 2. Bochkov N. P., Kozlov V. M., Pilosov R. A., Sevankaev A. V.: Genetica (1968), 4, 6, 93; 3. Borrenfreund Ellen, Krim Mathilde: J. Nat. Cancer Inst. (1964), 32, 3, 667; 4. Bové J. G., Bové A., Lazar Ph.: Path. et Biol. (1967), 15, 21—22, 997; 5. Chioreanu Livia, Chioreanu M., Székely C.: Rev. Med. (1970), 16, 1, 56; 6. Chioreanu Livia, Wiener F.: Stud. Cercet. Embriol, Citol, Ser. Citologie (1968), 5, 2, 187; 7. Dolimpio D. A., Jacobson C., Legator M.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. (1968), 12, 2, 559; 8. Fox M., Zeiss T. M.: Nature (1961), 192, 1213; 9. Friedrich U., Nielsen J.: Lancet (1969), 2, 7617,

- 435; 10. *Gebhart E.*: *Mutat. Res.* (1969), 7, 2, 254; 11. *Genest P.*: *Rev. Can. Biol.* (1967), 26, 3, 191; 12. *German J., La Rock J.*: *Tex. Rep. Biol. Med.* (1969), 27, 2, 409; 13. *De Grouchy J., Tudela Victoria, Feingold J.*: *Path. et Biol.* (1967), 15, 19—20, 879; 14. *Hampar B., Elllison S. A.*: *Nature* (1961), 192, 4798, 145; 15. *Jensen M. K.*: *Chromosome Studies in Acute Leukaemia*. Tezã de doctorat. Copenhagen, 1969, 15; 16. *Kaback M. M., Saksela E., Mellman W. J.*: *Exp. Cell Res.* (1964), 34, 1, 182; 17. *Karpfel Z., Slotova Jana, Palecek E.*: *Exp. Cell Res.* (1963), 32, 11, 147; 18. *Keutel J., Mockel H.*: *Humangenetik* (1969), 744, 344; 19. *Kilibarda M., Markovik B., Panov D.*: *Stud. Biophys.* (1968), 6, 3, 179; 20. *Nasjleti E. C., Walden J. M., Spencer H.*: *Cancer Res.* (1965), 25, 3, 275; 21. *Natarajan A. T., Nagaraja R. R.*: *Exp. Cell Res.* (1965), 38, 3, 580; 22. *Nowell P. C.*: *Exp. Cell Res.* (1964), 33, 3, 445; 23. *O'Neill F. J., Miles C. P.*: *Nature* (1969), 223, 5208, 851; 24. *Oppenheim J. J., Fischbein W. N.*: *Cancer Res.* (1965), 25, 7, 980; 25. *Ostertag W., Kersten W.*: *Exp. Cell Res.* (1965), 39, 1, 296; 26. *Sandberg A. A., Isihara T., Crosswhite L. H., Hauschka T. S.*: *Cancer Res.* (1962), 22, 6, 748; 27. *Schmickel R.*: *Amer. J. Hum. Genet.* (1967), 19, 1, 1; 28. *Schramm T., Schwabe K., Gibel W.*: *Arch. Geschwulst Forsch.* (1971), 37,1, 53; 29. *Schuler D., Kiss A., Fábíán F.*: *Humangenetik* (1969), 7, 4, 314; 30. *Scott D., Sharpe H., Batchelor A.*: *Mutat. Res.* (1969), 8, 2, 367; 31. *Smith J. L., Forbes J. I.*: *Nature* (1967), 215, 5100, 538; 32. *Stenman S., Saksela E.*: *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* (1968), suppl. 21, 58; 33. *Stenman S., Saksela E.*: *Hereditas* (1969), 62, 3, 323; 34. *Stenchever M. A., Jarvis J. A., Kreger N. K.*: *Obstet. Gynec.* (1969), 34, 2, 249; 35. *Sturelid S., Kihlman B. A.*: *Hereditas* (1969), 62, 1—2, 259; 36. *Timson J.*: *J. Reprod. Fertil.* (1969) 19, 3, 581.