

STUDIUL SENSIBILITĂȚII IN VITRO A CELULELOR TUMORALE FAȚĂ DE CITOSTATICE

I. László, M. Péter, L. Domokos, Sanda Piros, V. Filep, K. Boga

Folosirea celulelor primare tumorale pentru testarea substanțelor antineoplazice a fost raportată prima dată de Hirschberg (1) respectiv de Biesele (2) apoi de Eagle și Foley (3).

Datele bibliografice ale lui Rose și colab. (4) evidențiază o corelare a sensibilității in vivo-in vitro față de agenți citostatici în 40—80 %, iar a rezistenței în 90—100 %. Sanfilippe (5) ajunge la concluzia că aprecierea rezistenței este mai precisă, decât cea a sensibilității. După Werner sensibilitatea in vitro cu cea din vivo coincide în 50 % în cazul tumorilor ovariene. Aproape la aceleași concluzii ajung și alți autori, ca Baker și colab. (7) respectiv Tanneberger (8).

Scopul cercetărilor noastre a fost efectuarea oncobiogramei pe culturi de celule tumorale, obținute prin tripsinizarea fragmentelor tumorale, sau a celulelor canceroase obținute din lichid ascitic.

Material și metode

1. Fragmentele tumorale pînă la prelucrarea lor prin tripsinizare au fost menținute în templonul Dulbecco sau soluția Hanks. Tripsinizarea s-a efectuat după metodele uzuale. Pentru cultivarea celulelor neoplazice am folosit mediul M 199 (Inst. Cantacuzino), cu ser de vițel 10 %, penicilină 100 U/ml, streptomycină 10 μg/ml. În recipientele cu celule tumorale separat s-au introdus următoarele citostatice: vinblastine 10 μg/ml mediu, vincristina 2,5 μg/ml, cisplatin (sau Platidiam) 0,2 μg/ml, adriblastina (farmorubicina) 0,2 μg/ml, ftorafur 6 μg/ml mediu. Flacoanele cu celule și citostatice au fost menținute timp de 24 ore la 37 °C, apoi cu ajutorul microscopului inverz s-a controlat multiplicarea, respectiv absența multiplicării celulelor. După 48 de ore celulele au fost centrifugate în vederea determinării viabilității lor cu colorantul albastru de tripan.

Rezultate

În ultimii cinci ani prin metodele prezentate s-a testat sensibilitatea celulelor tumorale față de citostatice la 50 de bolnave de la Clinica de Obstetrică și Ginecologie nr. 1.

Sensibilitatea celulelor față de citostatice a fost următoarea: față de adriblastină (farmorubicină) 86,6 %; vinblastină 68 %; vincristină 61 %; cisplatin (platidiam) 70 %; ftorafur 18 %.

Dintre modificările morfologice ale celulelor tumorale aflate sub acțiunea citostaticelor domină alterarea membranei citoplasmice, vacuolizarea și granulația mai pronunțată a citoplasmei, uneori chiar cu apariția unor zone de necroze eozinofile.

Testarea viabilității celulelor tumorale cu albastru de tripan, urmată de studierea activității dehidrazice a celulelor în peste 97 % a cazurilor ne-a furnizat valori apreciabile. Dacă față de cultura martor (fără citostatice, la care celule vii sînt prezente peste 80 %) numărul celulelor nevii, care absorb colorantul, depășește 30 %, am considerat că citostaticul respectiv alterează funcțiile vitale ale celulelor canceroase.

Discutarea rezultatelor și concluzii

Oncobiograma efectuată de noi, în care ne-am orientat spre o determinare cît mai rapidă a sensibilității, s-a bazat pe studierea morfologică (multiplicare) a celulelor și pe studii biologice și biochimice. Față de *Hernádi* și colab. (9), care aplică metoda incubării tumorilor în prezența citostaticelor timp de 1 oră la 37 °C, iar după acest timp studiază creșterea tumorilor, noi am studiat modificările morfologice, respectiv viabilitatea celulelor numai după 24 ore sau chiar după 48 ore. În cercetările noastre din acest an, am urmărit viabilitatea celulelor după îndepărtarea citostaticelor, efectuînd și treceri succesive din culturile tratate cu citostatice.

Celulele rezistente își păstrează viabilitatea, ele formează frecvent microcolonii, iar cele care au fost sensibile față de un anumit citostatic nu se multiplică și nici nu prezintă activitate dehidrazică.

Părerea noastră privind determinarea viabilității celulelor tumorale supuse acțiunii citostaticelor, pot completa dar nu pot înlocui studierea, respectiv precizarea modificărilor morfologice.

Pe baza celor menționate mai sus, în cazul efectuării oncobiogramei — decît pentru precizarea sensibilității sau a rezistenței celulelor tumorale ce va urmări:

- modificările morfologice ale celulelor în prezența și în absența citostaticelor;
- determinarea viabilității celulelor prin albastru de tripan;
- urmărirea formării micro coloniilor prin treceri succesive în cazuri cînd rezistența nu a putut fi determinată (rezistență parțială);
- studiul acțiunii dehidrazice a celulelor tratate cu citostatice.

Din datele mai recente legate de oncobiogramă, menționăm cele ale lui *Nissen* și colab. (10) care ajung la concluzii similare cu cele menționate de noi.

Bibliografie

1. *Hirschberg E.*: Cancer Res. (1958), 18, 869; 2. *Biesele J. J.*: citat de *Tanneberger*; 3. *Eagle H., Foley G. E.*: Cancer Res. (1958), 18, 1017; 4. *Rose P. G.* și colab.: Amer. J. Obst. Gin. (1987), 156:3; 5. *Sanfilippe O.*: 14 th Internat. Cancer Congress. Budapest, vol. I, 252, Karger-Akadémiai Kiadó, Budapest, 1986; 6. *Werner A., Hamerich U., Krebs D.*: 14 th Internat. Cancer Congress Budapest, 1986, 406; 7. *Baker F.*: 14 Internat. Cancer Congress Budapest, 1986; 8. *Tanneberger St.*: Gewebekulturen und Zytostatika. Aktuelle Probleme der Zellzüchtung, VEB. Gustav Fischer Verlag, Jena, 1971, 417; 9. *Hernádi Z.* și colab.: Magyar Onkológia (1958), 3, 175; 10. *Nissen E.*: Chemotherapy Symposium 1984, Akadémiai Kiadó, Budapest, 1984, 583.