

Testul cu ^{59}Fe în studiul substanțelor radioprotectoare și terapeutice utilizate în radioterapia tumorilor maligne

Dr. Z. Uray, dr. Mariana Maniu, dr. Camelia Banu

Instituțl oncolologic (director : prof. dr. doc. I. Chiricuță), Cluj-Napoca

REZUMAT

S-a studiat timp de 7 zile dinamica încorporării fierului radioactiv (^{59}Fe) în hemoglobina populațiilor tinere eritrocitare la șoareci A2G neiradiați și iradiați cu doze de 100 rad. (^{60}Co) netratați și tratați cu substanțe radioprotectoare și terapeutice utilizate ca adjuvante în radioterapia antitumorală.

S-a constatat că, în cazul lotului martor, la 3 zile după falsă iradiere, respectiv la 2 zile după injectarea radiofierului, 36–38% din activitatea injectată se găsește în circulație, încorporată în eritrocite. În următoarele zile, încorporarea izotopului crește cu o rată zilnică de 0,9–1,2%.

Iradierea cu 100 rad. la animalele netratate deprimă semnificativ încorporarea radiofierului, valorile fiind de 10–11% la 2 zile, iar rata creșterii zilnice de 0,8–0,9%.

Administrarea de AET, cistamină, folcisteină U, cu 10–20 min. înainte iradierii, duce la o creștere semnificativă a încorporării radiofierului, valorile fiind de 20–26% la două zile, iar rata creșterii zilnice de 0,8–1,1%.

Administrarea fracției timice B și a leucotrofinei cu 1–2 ore înainte sau după iradiere duce, de asemenea, la o creștere semnificativă a încorporării radiofierului. La ambele loturi, valorile medii la 2 zile se situează între 19 și 25%, iar rata creșterii zilnice între 0,9 și 1,1%.

Testul cu ^{59}Fe s-a dovedit a fi o metodă deosebit de sensibilă și fidelă în studiul efectului hematoprotector al unor substanțe chimice, farmacologice și extracte biologice la nivelul dozelor subletale.

*Radioterapie
Tumoare malignă*

Datorită radiosensibilității pronunțate a elementelor tinere din seria eritrocitară, clearance-ul plasmatic și încorporarea fierului radioactiv (^{59}Fe) în hemoglobina populațiilor tinere sînt foarte sensibil influențate de doze relativ mici de iradiere (1, 3, 4, 6, 10). Reactivitatea doză-dependentă a măduvei hematogene, precum și posibilitățile de explorare complexă și fidelă cu metode citologice și radioizotopice a eritropoiezei și a ferocineticii au determinat pe mulți autori să utilizeze aceste metode pentru testarea eficacității unor substanțe radioprotectoare și terapeutice (7, 11, 12, 13, 14).

Utilizînd testul cu ^{59}Fe , în lucrarea de față am studiat efectul radioprotector și terapeutic al unor substanțe chimice (AET, cistamină, folcisteina U) și extracte timice (fracția timică B și leucotrofina) la șoareci iradiați total cu 100 radiații gama.

Experiențele au fost efectuate pe 500 de șoareci A2G, de sex masculin, în greutate de 25 ± 2 g, ținuți la un regim standard de crescătorie. Animalele au fost injectate i.m. cu 0,2 ml leucotrofină (Lab. Ellem, Milano, Italia — 0,2 ml corespunzând la 50 mg glandă proaspătă, respectiv fracția timică B (Inst. endocrinologic din București, România) — 0,2 ml corespund la 50 mg glandă proaspătă, înainte sau după iradiere, la intervalele prezentate în tabelul nr. I și II. Alte loturi au fost injectate cu 300 mg/kilocorp AET (Richter-Gedeon, Budapesta, R.P.U.), 150 mg/kilocorp cistamină (Fluca — C.S.R.) și cu 0,1 ml folcisteină U (0,1 mg acid folic, 5 mg cisteină hidroclică și 5 mg urotropină), (Fabrica de medicamente, București, R. S. România) pe cale i.p. cu 10—20 min. înaintea iradierii (tabelul III).

Iradierea s-a făcut cu un aparat de telecobaltoterapie Theratron-S (D.F.P. ≈ 80 cm, câmp 20×20 cm, debit 76 rad./min.). La 24 ore după iradiere, animalele au fost injectate i.p. cu 0,2 μ Ci fier radioactiv, sub formă de citrat feros amoniacal. La 3, 5 și 8 zile după iradiere, animalele au fost cântărite individual și s-a recoltat câte 0,1 ml sânge din sinusul venos retro-orbital. Probele de sânge au fost măsurate cu un contor de scintilație prevăzut cu un cristal scobit, cuplat la un numărător de impulsuri tip Vakutronil DM-15 (R. D. Germană). Volumul sanguin al animalelor a fost calculat indirect, considerînd că reprezintă 6% din greutatea animalelor. Incorporarea fierului radioactiv în eritrocite a fost calculată după formula :

$$\text{Incorporarea } ^{59}\text{Fe} \text{ în eritrocite (\%)} = \frac{\text{radioactivitatea volumului sanguin total}}{\text{radioactivitatea injectată}} \times 100.$$

Semnificația rezultatelor a fost calculată după testul „t” Student.

REZULTATE

Rezultatele obținute în studiul experimental cu fracția timică B și leucotrofină sînt prezentate în tabelele I și II.

Din datele acestor tabele reiese că, la animalele neiradiate și netratate (lot 1 a și 1 b), la 2 zile după administrarea radiofierului, 37,7% din substanța injectată se găsește în circulație, sub formă de fier încorporat în hemoglobina eritrocitelor tinere. În zilele următoare, incorporarea radiofierului crește constant, cu o rată zilnică de 0,9—1,1%. Iradierea animalelor netratate cu 100 rad. radiații gamma (lot 2 a, 2 b) deprimă semnificativ incorporarea radiofierului în eritrocite. Media valorilor la 2 zile se situează între 10 și 10,5%. În zilele următoare, aceste valori cresc constant cu o rată zilnică de 0,8—0,9%.

Administrarea fracției timice B (lot 3 a), respectiv leucotrofină (lot 3 b), la animalele neiradiate (fals iradiate) nu modifică incorporarea radiofierului în eritrocite. Valorile medii la 2 zile se situează la ambele loturi între 36 și 38%, iar rata zilnică de creștere între 1 și 1,2%.

Administrarea de 0,2 ml fracție timică B (lot 4—7 a) respectiv 0,2 ml leucotrofină (lot 4—7 b), cu 30 min., 1 oră, 2 ore, repetat în două doze la 24 de ore și 30 min. înaintea iradierii, duce la o creștere semnificativă a încorporării radiofierului în eritrocitele tinere. La ambele loturi valorile medii la 2 zile se situează între 21 și 24%, iar rata zilnică de creștere între 0,9 și 1,1%. Un răspuns similar a fost obținut și în cazul cînd fracția timică B (lot 8—11 a), respectiv leucotrofina (lot 8—11 b), a fost administrată la 30 min., 1 oră, 2 ore sau repetat la 30 min. 24 de ore după

Tabelul I

Încorporarea fierului radioactiv în hematii la șoareci iradiați, netratați și tratați cu fracție timică B

Lot	Tratament	Încorporarea fierului radioactiv în hematii (%) la :		
		3 zile p	5 zile p	8 zile p
1.a	Martori neiradiați	37,3±3,2	39,3±1,3	41,9±1,9
2.a	Martori iradiați cu 100 rad.	10,5±0,7	12,8±1,4	15,1±1,6
3.a	FT-B 0,2 ml i.m. 60 min. înaintea fals iradierii	37,8±3,1	40,1±1,4	42,1±2,1
4.a	FT-B 0,2 ml i.m. 30 min. înaintea iradierii	21,6±2,3*)	24,5±1,1*)	25,7±1,5*)
5.a	FT-B 0,2 ml i.m. 60 min. înaintea iradierii	23,2±1,3*)	25,2±1,3*)	27,0±2,2*)
6.a	FT-B 0,2 ml i.m. 120 min. înaintea iradierii	22,8±2,6*)	24,1±1,0*)	26,1±2,1*)
7.a	FT-B 0,2 ml i.m. 24 ore și 30 min. înaintea iradierii	22,7±2,4*)	24,4±1,2*)	27,1±2,4*)
8.a	FT-B 0,2 ml i.m. 30 min. după iradiere	19,0±1,2*)	23,2±2,2*)	24,1±0,8*)
9.a	FT-B 0,2 ml i.m. 60 min. după iradiere	19,9±1,5*)	23,9±1,7*)	25,9±1,3*)
10.a	FT-B 0,2 ml i.m. 120 min. după iradiere	18,8±1,7*)	20,5±0,6*)	23,4±1,7*)
11.a	FT-B 0,2 ml i.m. 30 min. și 24 ore după iradiere	19,8±2,0*)	22,0±2,7*)	25,2±1,6*)

*) p = 0,1 – foarte semnificativ.

Tabelul II

Încorporarea fierului radioactiv în hematii la șoareci iradiați, netratați și tratați cu leucotrofină

Lot	Tratament	Încorporarea fierului radioactiv în hematii (%) la :		
		3 zile p	5 zile p	8 zile p
1.b	Martori neiradiați	37,7±3,2	39,3±1,3	41,9±1,9
2.b	Martori iradiați	10,5±0,7	12,8±1,4	15,1±1,6
3.b	Leucotrofină 0,2 ml i.m. 60 min. înaintea fals iradierii	36,3±2,0	39,7±1,5	32,4±1,6
4.b	Leucotrofină 0,2 ml i.m. 30 min. înaintea iradierii	22,5±2,3*)	24,5±1,3*)	25,8±2,0*)
5.b	Leucotrofină 0,2 ml i.m. 60 min. înaintea iradierii	23,7±2,5*)	25,1±1,7*)	28,7±2,7*)
6.b	Leucotrofină 0,2 ml i.m. 120 min. înaintea iradierii	21,8±2,2*)	24,1±2,0*)	25,7±2,1*)
7.b	Leucotrofină 0,2 ml i.m. 30 min. după iradiere	22,5±1,7*)	24,1±1,2*)	25,4±1,6*)
8.b	Leucotrofină 0,2 ml 24 ore și 30 min. înaintea iradierii	22,7±1,8*)	25,5±2,3*)	28,8±1,7*)
9.b	Leucotrofină 0,2 ml i.m. 60 min. după iradiere	21,7±0,9*)	24,6±0,7*)	25,9±2,0*)
10.b	Leucotrofină 0,2 ml i.m. 120 min. după iradiere	19,1±1,2*)	22,1±1,3*)	23,8±1,4*)
11.b	Leucotrofină 0,2 ml i.m. 30 min. și 24 ore după iradiere	21,9±0,8*)	25,1±1,7*)	26,2±1,2*)

*) p = 0,01 – foarte semnificativ.

iradiere. Valori medii la 2 zile, în cazul fracției timice B, se situează între 18 și 20%, iar în cazul leucotrofinei între 19 și 23%. Media ratei de creștere zilnice la ambele loturi posttratate este între 0,8 și 1%.

Tabelul III

Încorporarea fierului radioactiv în hematii, la șoareci iradiați, netratați și tratați cu AET, cistamină și folcisteină U

Nr. lot.	Tratament	Încorporarea fierului radioactiv în hematii (%) la :		
		3 zile p	5 zile p	8 zile p
1	Martori neiradiați	37,3 ± 3,2	39,3 ± 1,3	41,9 ± 1,9
2	Martori iradiați cu 100 rad.	10,5 ± 0,7	12,6 ± 1,4	15,1 ± 1,6
3	AET 300 mg/kilocorp i.p. 15–20 min. înainte iradierii	26,3 ± 1,8*)	28,1 ± 1,2*)	31,9 ± 1,3*)
4	Cistamină 150 mg/kilocorp 10–15 min. înainte iradierii	26,8 ± 0,7*)	28,2 ± 1,2*)	30,7 ± 0,8*)
5	Folcisteină U 0,1 ml 15–20 min. înainte iradierii	20,7 ± 0,5*)	23,2 ± 1,2*)	25,6 ± 1,3*)

*) = p = 0,01 – foarte semnificativ

Rezultatele obținute cu substanțele radioprotectoare chimice sunt prezentate în tabelul III. Administrate în doze optime și la intervale optime, AET-ul, cistamină și folcisteina U determină o creștere foarte semnificativă a încorporării radiofierului în eritrocite. Valorile medii la 2 zile la loturile tratate cu AET — și cistamină se situează între 26 și 27%, iar la cele tratate cu folcisteina U între 20 și 21%. Rata zilnică de creștere la toate loturile este între 0,8 și 1,2%.

DISCUȚII ȘI CONCLUZII

Rezultatele prezentate, confruntate cu datele din literatură (3, 5, 6, 8, 9, 11), precum și cu lucrările noastre anterioare (12, 13, 14), ne permit să tragem următoarele concluzii preliminare :

1. Frația timică B și leucotrofina nu stimulează eritropoeza la animalele cu sistemul eritropoietic normal, nelezat de iradiere ;
2. administrarea fracției timice B și leucotrofinei înainte iradierii (30 min. — 2 ore) sau după iradiere (30 min. — 2 ore) mărește semnificativ încorporarea radiofierului în eritrocite. Valorile și dinamica încorporării indică o activitate eritropoietică medulară crescută la aceste loturi ;
3. extractele timice nu influențează radioleziunile inițiale ale țesutului hematopoietic, dar stimulează și accelerează restaurarea și refacerea funcției medulare. Mecanismele prin care aceste extracte timice acționează asupra proceselor de refacere, postiradiative, sînt insuficient cunoscute (2, 8, 9). Probabil că ele acționează asupra restituției celulelor sușe medulare (*stem cells*), favorizînd în prima fază restituția la nivel celular (*repair*), iar în cea de a doua restituția la nivelul populațiilor celulare (*repopulation*) (1, 3, 5) ;
4. administrarea de AET, cistamină sau folcisteină U cu 10–20 min. înainte iradierii duce la o creștere semnificativă a încorporării radiofierului în eritrocite. Valorile și dinamica încorporării pledează pentru o activitate

eritropoietică medulară sensibil mai puțin lezată față de lotul iradiat și tratat. Aceste substanțe sînt total ineficace dacă se administrează după iradiere (1, 3, 12). Substanțele radioprotectoare chimice prin diferite mecanisme (captarea radicalilor liberi, formarea disulfurilor mixte, șocul biochimic) diminuează intensitatea reacțiilor radiochimice imediate și gravitatea leziunilor biochimice și biologice radioinduse ;

5. rezultatele obținute confirmă și testul ^{59}Fe reflectă fidel gravitatea radioleziunilor medulare, atenuarea și reducerea acestora prin substanța radioprotectoare chimice, precum și intensitatea proceselor de refacere post-radiative stimulate de substanțele terapeutice. Testul poate fi utilizat ca dozimetru biologic și ca metodă rapidă și fidelă pentru testarea substanțelor radioprotectoare și terapeutice în scopul utilizării lor în chimio- și radioterapia antitumorală.

BIBLIOGRAFIE

1. ALTMAN K. J., GERBER G. B., OKADA S. — *Radiation Biochemistry*, vol. II, Academic Press, New York, Londra, 1970 ;
2. COMȘA I. — *Ann. Endocrinol.*, 1956, 17, 777—784 ;
3. FABRIKANT I. J. — *Radiobiology*, 1972, Medical Publishers, Inc., Chicago ;
4. GUGLIELMO L., COUCOURDA F. — *Minerva med.*, 1970, 61, 3 805 ;
5. KITULESCU IRINA, COSTACHEL O. — *Oncologia (Buc.)*, 1972, XIV, 2, 103—113 ;
6. LANGENDORF H., KOCH R., REISINGHOFF G. — *Int. J. appl. Radiat. Isotop.*, 1973, 16, 521—522 ;
7. LORD B. I., SCHOFIELD R. — *Blood*, 1973, A. 3, 395—404 ;
8. LUCKEY T. D. — *Thymic hormones*, Univ. Park Press., Baltimore, Londra, Tokyo, 1973 ;
9. MILCU ST. M., POTOP IZABELA — *Farmacodinamia substanțelor hormonal asemănătoare din timus*, Ed. Acad. R.S.R., București, 1970 ;
10. ORECCHIA C., ARDIZONE L., SIGUADO F. — *Minerva Med.*, 1970, 61, 3 825 ;
11. TADAMITSU L. și colab. — *Rad. Res.*, 1972, 50, 136—157 ;
12. URAY Z. și colab. — *Atomkernenergie (ATKE)*, 1971, 17, 4, 325—326 ;
13. URAY Z., FARCAȘANU M., MANIU MARIANA — *Agresologie*, 1970, 11, 4, 357—360 ; URAY Z., ONIȘOR MARIA — *Magyar Onkol.*, 1977, 11, 60—62.

Articol intrat în redacție la 25.II.1978

Indicele de clasificare : 616—006.04—085.849

SUMMARY

Uray, Mariana Maniu, Camelia Banu — THE ^{59}Fe TEST IN THE STUDY OR RADIO-PROTECTIVE AND THERAPEUTICAL SUBSTANCES USED IN THE RADIO-THERAPY OF MALIGNANT TUMOURS

A study was carried out during 7 days on the uptake of radioactive iron (^{59}Fe) in the hemoglobin of juvenile erythrocytic populations in A2G mice, not irradiated or irradiated with doses of 100rad (^{60}Co), not treated or treated) with the radioprotective and therapeutic substances used as adjuvants in antitumoural radiotherapy.

In the controls 3 days after the false irradiation, i.e. 2 days after ^{59}Fe injection, 3—38% of the radioactive substance is to be found in the erythrocytes in the circulation. During the following days uptake of the isotope increased by 0.9—1.2% daily.

Irradiation with 100 rads of the untreated animals significantly depressed the uptake of ^{59}Fe , with values of 10—11% at 2 days and a daily increase of 0.8 to 0.9%.

The administration of AET, cystamine, folcysteine U 10—20 minutes before irradiation significantly increased the uptake of iron to 20—26% at days with a daily increase of 0.8—1.1%.

Administration of thymus fraction B and of Leukotrophin 1—2 hours before or after irradiation likewise increased the uptake in both lots, the mean values at 2 days ranging between 19 and 25%, with a daily increase of 0.9 to 1.1%.

The ^{59}Fe test has proved a particularly sensitive and reliable test for study of the hematoprotective effect of certain chemical, pharmacological substances and biological extracts in sublethal doses.

РЕЗЮМЕ

3. Урай, Мариана Маниу, Камелия Бану — ТЕСТ С ПРИМЕНЕНИЕМ ^{59}Fe ПРИ ИССЛЕДОВАНИИ РЕНТГЕНОЗАЩИТНЫХ И ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ, ПРИМЕНЯЕМЫХ ДЛЯ РАДИОТЕРАПИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ

Авторы в течение 7 дней наблюдали динамику связывания радиоактивного железа — ^{59}Fe — в гемоглобине молодых эритроцитарных популяций у необлученных дозами в 100 р (^{60}Co) мышей А—20 леченных и нелеченных радиозащитными терапевтическими препаратами, использованными как вспомогательные вещества при противоопухолевом лечении.

Было констатировано, что в контрольной группе спустя 3 дня после ложного облучения и, соответственно-спустя 2 дня после впрыскивания радиоактивного железа, 36—38% впрыснутой активности обнаруживается в кровообращении, включенной в эритроциты. В последующие дни включение изотопа повышается с ежедневной добавкой равной 0,9—1,2%.

При облучении 100 рад. у нелеченных животных отмечается значительное подавление включения радиоактивного железа, значения которого равны 10—11% спустя 2 дня, а ежедневное повышение равно 0,8—0,9%.

Введение АЕТ, цистамина, фолцистеина U за 10—20 мин. до облучения обуславливает значительное повышение включения радиоактивного железа, значения которого равны 20—26% каждые 2 дня, а ежедневное повышение равно 0,9—1,1%.

Введение тимической фракции В, а также и лейкотрофина за 1—2 часа до или после облучения, также обуславливает значительное повышение связывания радиоактивного фосфора.

В обеих группах больных средние значения каждые 2 дня были в пределах 19—25%, а ежедневные повышения — в пределах было от 0,9 и до 1,1%. Тест ^{59}Fe оказался весьма чувствительным и надежным методом при исследовании гематозащитной действенности некоторых химических и фармакологических препаратов, а также в биологических вытяжек на уровне сублетальных доз.