

STUDIUL MECANISMULUI DE ACȚIUNE A UNOR SUBSTANTE  
RADIOPROTECTOARE NEUROTROPE

Z.Uray, Vera Derevenco, M.Fărcașanu, Rodica Abrudan,  
Cornelia Gherman, T.Holan

Sectia de medicină nucleară, Cluj  
(primit în redacție la 15.III.1966)

Radiosensibilitatea funcțională importantă a sistemului neuro-endocrin și în special a sistemului nervos central (S.N.C.) arată rolul însemnat pe care îl au aceste sisteme în constituirea și evoluția sindromului de iradiere. În continuarea unor cercetări anterioare (2, 9) am studiat acțiunea unor hormoni (14) și a unor substanțe neurotrope având un efect de inhibiție selectivă asupra anumitor zone în S.N.C. (7), urmărind consecințele aplicării lor înaintea unei iradieri cu 700 R, radiatii Röntgen. Am regăsit astfel acțiunea radioprotectoare a morfinei, pentotalului și largactilului.

În etapa următoare, prezentată în lucrarea de față, am trecut la studiul mecanismelor de acțiune a substanțelor neurotrope care au prezentat o acțiune radioprotectoare semnificativă.

Material și metode

Pentru testele metabolice s-au utilizat 160 de șoareci albi masculi, de 20-25 g, ținuți la regim obișnuit de

crescătorie, împărțiți în loturi de cîte 40 de animale :

- lotul I - martor ;
- lotul al II-lea - tratat cu 60 mg/kilocorp morfină ;
- lotul al III-lea - tratat cu 40 mg/kilocorp plegomazină (largactil) ;
- lotul al IV-lea tratat cu 30 mg/kilocorp pentotal, toate substanțele fiind administrate intra muscular.

Fiecare lot a fost divizat în două grupe de cîte 20 de animale, prima grupă fiind iradiată la un aparat de roentgenterapie Stabilivolt (doza unică 700 R, debit R/min., 160 kV, 10 mA, 0,5 mm Cu, distanța focus-animal 40 cm). Iradierea s-a făcut la 100 de minute după administrarea morfinei și la 50 de minute după administrarea largactilului și pentotalului, intervale dovedite optime în ceea ce privește efectul radioprotector (7).

Ambele grupe de animale iradiate (imediat după iradiere) și neiradiate au primit :

a) 3 uCi NaI<sup>131</sup> intraperitoneal, la 8 animale din fiecare grup, pentru determinarea in vivo a curbei de radioiodocaptare (RIC), la 2, 5 și 24 de ore, exprimată în pulsuri/min. Măsurătorile s-au executat cu un tub de scintilație, prevăzut cu un colimator de plumb, în contact cu regiunea tiroidiană.

b) 15 uCi Na<sub>2</sub>HP<sup>32</sup>O<sub>4</sub> intraperitoneal, la alte 8 animale din fiecare grup. La 2 ore după administrarea izotopului, animalele au fost sacrificiate cu eter, timp suficient pen-

tru stabilirea fosfocaptării (R.P.C.) în organe (11, 13), determinîndu-se raportul organ/plasmă pentru sistemul nervos central (S.N.C.<sub>1</sub> - regiunea corticală, S.N.C.<sub>2</sub> - regiunea subcorticală, bazală), pentru tiroidă și suprarenală, printr-o metodă descrisă anterior (5).

Pentru determinarea debitului circulator cerebral s-au utilizat 25 de șobolani albi de 180-200 g, împărțiti în 5 loturi de cîte 5 animale ;

- lotul I - martor ;
- lotul al II-lea - iradiat cu 700 R.;
- lotul al III-lea - tratat cu largactil (40 mg/kilocorp);
- lotul al IV-lea - tratat cu largactil (40 mg/kilocorp) și iradiat cu 700 R, la 60 de minute după injectare ;
- lotul al V-lea - tratat cu morfină (60 mg/kilocorp).

Loturile iradiate au fost prelucrate la 5 minute după iradiere, cele neiradiate au fost sacrificiate în timpul acțiunii maxime a substanțelor (largactil la 60 de minute, morfină la 100 de minute). Debitul circulator cerebral a fost determinat cu ajutorul iodoantipirinei marcate cu  $I^{131}$ (IAP). Animalele au fost injectate intravenos cu 10  $\mu$ Ci substanță marcată și sacrificiate după 30 de secunde prin injectarea intravenos de soluție KCl suprasaturată. Creierul, sectionat la nivelul șanțului bulbopontin a fost cîntărit și introdus în 25 ml soluție 20% KOH. S-a măsurat apoi radioactivitatea, rezultatele fiind exprimate în concentrarea procentuală a iodoantipirinei marcate în sistemul nervos central, față de doza

injectată.

### Rezultate

#### a) Modificările radioiodocaptării

1. La animalele neiradiate, rezultatele sunt prezentate în fig. 1.

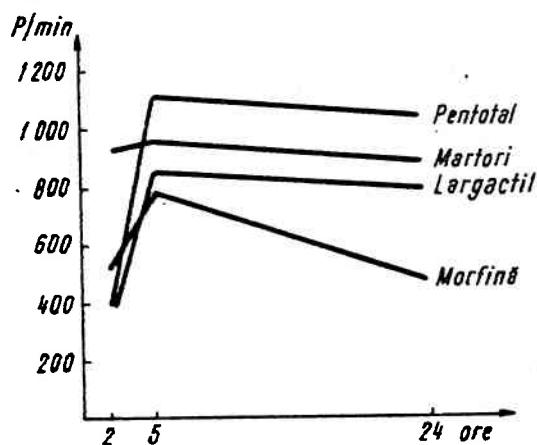


Fig.1. - Variația radioiodocaptării tiroidiene la animalele martor și cele tratate.

După cum se vede în figura 1, curba RIC la animalele martore are aspectul de platou, fără modificări sensibile între 2,5 și 24 de ore. Curba RIC la animalele tratate cu lergactil și morfină se situează valoric sub cea a martorilor, la toate intervalele de timp studiate, în timp ce pentotalul induce o RIC crescută la 5 și 24 de ore și subnormală la 2 ore. De remarcat faptul că loturile tratate cu cele trei substanțe au o fixare foarte joasă la 2 ore și în valori foarte apropiate, pentru a se diferenția ulterior, în special la 5 ore, cînd atît martorii, cît și animalele tratate ating captarea maximă. Scăderea cea mai remarcabilă la 24 de ore este realizată de animalele tratate cu morfină.

2. La animalele iradiate, rezultatele sunt infățișate în figura 2.

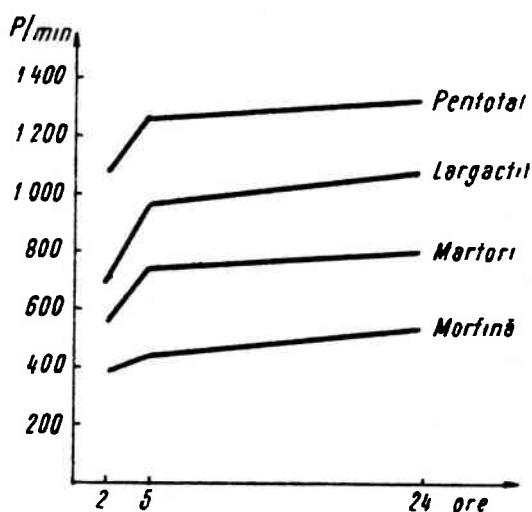


Fig.2.- Variația radioiodocaptării la animalele iradiate și tratate.

Comparînd-o cu figura 1 se observă faptul că iradierea scade RIC la martori și la animalele tratate cu morfină, în timp ce la animalele tratate cu pentotal și cu largactil, aceasta crește în urma iradierii la toate intervalele de timp. Maxima tuturor curbelor se situează la 24 de ore. Singura substanță care, după iradiere, își modifică tipul de influență asupra RIC este largactilul, care induce după iradiere o curbă valoric superioară celei a martorilor.

b) Modificările fosfocaptării

Rezultatele sunt prezentate în tabelele I și II.

1. La animalele neiradiate: la martori, RPC în sistemul nervos central este în general mică, fiind însă com-

arativ mai ridicată în zonele corticale. Suprarenala și tiroidea au o RPC mai activă, predominând cea tiroidiană. Toate substanțele utilizate scad în măsură inegală, RPC din cele două glande, respectând însă predominanța tiroidiană. Scăderea RPC nu este prea marcată ; semnalăm însă faptul că largactilul și morfina inversează predominanța RPC în favoarea zonelor subcorticale, dar, în timp ce largactilul o face la valori apropiate de cele ale martorilor, morfina realizează același fenomen la cifre mai joase.

2. La animalele iradiate, martorii iradiați prezintă față de animalele neiradiate martore o relativă scădere a RPC în zonele corticale la S.N.C.,; în schimb se observă o inversare a raportului RPC suprarenală/tiroidă, cu creșterea RPC în suprarenală și scăderea marcată a celei tiroidiene. La animalele iradiate și tratate cu substanțe neurotrope, RPC sistemului nervos scade aproape la jumătate față de neiradiați, menținîndu-se inversarea raportului  $SNC_1/SNC_2$  la largactil. RPC glandulară este uniform scăzută la largactil, uniform crescută la pentotal și disjunctiv crescută la suprarenală, sub influența morfinei.

Comparînd grupul de animale iradiate și tratate cu cel martore, iradiate, se constată aceleași scăderi aproape la jumătate a RPC sistemului nervos. Numai grupul tratat cu morfină respectă inversarea raportului suprarenală/tiroidă, realizat de martorii iradiați, în timp ce celelalte două substanțe păstrează predominanța tiroidiană; în cazul largactilului, aceasta se realizează mai ales prin scăderea RPC în suprarenale, în timp ce la pentotal, RPC suprarenală scade, iar cea

tiroidiană crește.

c) Modificările debitului circulator cerebral

Rezultatele sunt prezentate în tabelul III:

Tabelul III

Modificarea debitului circular cerebral sub  
acțiunea iradierii și sub acțiunea substanțelor  
neurotrope

Experiență	Captarea la % al IAP în S.N.C. $X \pm 2 SX$	Față de lotul martor neiradiat
Lotul martor neiradiat	5 12,1 $\pm$ 2,12	-
Lotul iradiat cu 700 R	5 11,7 $\pm$ 1,48	P 0,5
Lotul tratat cu largactil	5 14,1 $\pm$ 2,36	P 0,2
Lotul tratat cu largactil și iradiat cu 700 R	5 12,3 $\pm$ 2,80	P 0,5
Lotul tratat cu morfină	5 17 $\pm$ 2,40	P = 0,02 (semnificativ)

Rezultă deci că debitul circulator cerebral scade nesemnificativ la animalele iradiate cu 700 R față de martori. Largactilul produce o creștere nesemnificativă a debitului circulator cerebral; animalele tratate cu largactil și iradiate prezintă aceleași valori cu martorii. Singura care mărește în mod semnificativ debitul circulator

cerebral este morfina.

### Discuții

1. Sistemul nervos central. Modificările metabolice ale S.N.C., cercetate prin RPC la două etaje diferite, nu arată diferențe semnificate în cazul nostru între animalele iradiate și neiradiate, ceea ce se datorește, pe de o parte, fixării mai lente a radiofosforului la acest nivel, iar pe de altă parte metodei care urmărește modificarea globală și care nu dă amănunte asupra intimității proceselor nervoase postiradiere. Totuși, metoda este suficientă pentru a ne arăta că toate cele trei substanțe radioprotectoare acționează în același sens, scăzând RPC la acest nivel, mult mai puternic la animalele iradiate decât la cele neiradiate. Această scădere a RPC este paralelă cu reducerea metabolismului, ceea ce ar putea explica în parte mecanismul lor radioprotector. Părerile asupra modificărilor metabolice din creier după iradierea organismului sunt divergente : unii autori constată scăderea metabolismului (3, 17) și a fosfatului marcat din fosfolipidele cerebrale (8), în timp ce alții observă o creștere a consumului de oxigen cu 40 % în creierul de șoarece după iradiere (16). În sprijinul observației noastre se subliniază efectul largactilului, care, după iradiere, scade acest consum de oxigen (16).

Credem că uniformitatea rezultatelor noastre asupra radioprotecției realizate de substanțele utilizate arată faptul că acesta își exercită acțiunea pornind de la nivelul sistemului nervos central, determinînd o hipoxie centrală (lo,

15) și o scădere globală a metabolismului cerebral ; desigur că diferențierea mecanismului de acțiune și a locului de atac al acestor substanțe s-ar putea face fie prin cercetări la diferite intervale de timp, fie separarea diferitelor fracțiuni fosforate din sistemul nervos central.

2. Suprarenala și tiroidea. La șoareci neiradiati, tiroida prezintă la 2 ore o RPC mai ridicată decât suprarenala. Acest fenomen este în concordanță cu alte cercetări ale noastre (5) și care au stabilit că, la șobolani, în condiții de stress sau de administrare de ACTH exogen, capacitatea fosfocaptantă a celor două glande se inversează. Același lucru se constată în experiența de față, cind șoareci iradiati prezintă o RPC suprarenală mai mare decât cea tiroidiană, ceea ce arată că iradierea acționează ca un factor stresant (1). Un argument în plus pentru aceasta este acțiunea largactitului, care scade puternic RPC suprarenalei și mai puțin pe cea tiroidiană după iradiere, știindu-se că această substanță blochează secreția de ACTH (4, 6).

Pentotalul, despre care se știe că are o acțiune de scurtă durată (10), realizează, după Milcu (12), o creștere a activității tiroidiene mai lentă la animalul neiradiat (unde vîrful curbei RIC depășește martorul la 5 ore) decât la animalul iradiat, unde RPC tiroidiană, ca și RIC, este mai mare la 8 ore decât la martorul netratat, iradiat.

Morfina respectă, în mare proporțiile RPC martorilor iradiati, la un nivel mai redus, dar fără a preveni efectul stresant al iradierii, după cum se vede din creșterea remar-

cabilă a ~~RPC~~ în suprarenale la animalul iradiat față de cel neiradiat.

Interesant de subliniat este faptul că morfina, cu acțiune corticală și bulbară prin excelență nu modifică alcătuirea RPC în glande la animalul iradiat. În schimb, pentotalul, ca și lergactilul (ambele cu acțiune subcortico-hipotalamo-reticulată), surprind probabil hipotalamusul în efortul de reechilibruire a funcțiilor neuro-endocrino-vegetative dereglate de iradiere. În această situație, ele păstrează raportul tiroidă/suprarenală al martorilor neiradiati, prevenind inversarea provocată de stress-ul iradierii.

Fără un paralelism absolut, funcția radioiodocaptantă tiroidiană, care, în fond, ilustrează starea mecanismului regulator central, corespunde stării metabolice testate prin radiofosfocaptare. Credem că este ilustrativă în acest sens, acțiunea pentotalului; la animalul neiradiat, la 2 ore, există o RPC tiroidiană care depășește pe cea realizată de lergactil și morfină, RIC fiind la acest interval de timp apropiată cu cea dată de celelalte două substanțe. În schimb, la 5 și 24 de ore, RIC, în cazul pentotalului, depășește mult pe cea a celorlalte substanțe și chiar pe cea a martorilor. RPC mărită la 2 ore arată o mobilizare de TSH (12) care induce la început o stare metabolică activă (RPC) și apoi o hiperactivitate tircidiană (RIC). La celelalte substanțe cunoscute ca inhibante tiroidiene, efectul este paralel.

La animalul iradiat, pentotalul își menține efectul, crescînd atît RPC, cît și RIC peste normal, ca și cum iradierea ar potența cunoscutul efect hipertiroïdizant al pento-

Tabelul II

Fosfocaptarea exprimată în coeficient organ/plasmă la șoareci iradiați cu 700 R.

Experiență	n	S.N.C. <sub>1</sub> /pl			S.N.C. <sub>2</sub> /pl			T/pl			SR/pl		
		X ± Es	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	X + Es	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	X ± Es	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	X ± Es	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>
Martori	5	1,12 ± 0,04	-	0,5	0,88 ± 0,05	-	0,1	10,3 ± 0,36	-	0,02	13,6 ± 0,5	-	0,5
Largactil	4	0,46 ± 0,08	0,02	0,02	0,59 ± 0,006	0,01	0,05	8,4 ± 2,1	0,01	0,2	5,6 ± 0,65	0,01	0,05
Pentotal	6	0,8 ± 0,11	0,05	0,2	0,67 ± 0,11	0,1	0,2	14,8 ± 1,24	0,01	0,5	9,7 ± 0,91	0,01	0,2
Morfină	6	0,56 ± 0,09	0,01	0,2	0,52 ± 0,1	0,02	0,5	8,9 ± 0,9	0,2	0,5	11,15 ± 1,7	0,2	0,05

n = Numărul șoarecilor din lot.

Es = Eroarea standard.

P<sub>1</sub> = Probabilitatea față de martori iradiați.

P<sub>2</sub> = Probabilitatea față de lotul corespunzător neiradiat.

0,01 = Foarte semnificativ.

0,02 = Deplin semnificativ.

0,05 = Semnificativ.

Tabelul I

Fosfocaptarea exprimată în coeficient organ/plasmă la șoareci neiradiati

Experiența	n	S.N.C <sub>1</sub> /pl		S.N.C <sub>2</sub> /pl		T/pl		SR/pl	
		$\bar{X} \pm Es$	P	$\bar{X} \pm Es$	P	$\bar{X} \pm Es$	P	$\bar{X} \pm Es$	P
Martori	5	1,12 $\pm$ 0,06	-	1,0 $\pm$ 0,07	-	17,7 $\pm$ 0,6	-	13,6 $\pm$ 0,3	-
Largactil	4	0,93 $\pm$ 0,12	0,1	1,02 $\pm$ 0,13	0,5	10,8 $\pm$ 2,6	0,05	8,2 $\pm$ 1,2	0,02
Pentotal	6	1,0 $\pm$ 0,18	0,5	0,82 $\pm$ 0,17	0,5	13,8 $\pm$ 0,95	0,01	8,87 $\pm$ 0,34	0,01
Morfina	5	0,7 $\pm$ 0,11	0,01	0,77 $\pm$ 0,1	0,02	9,16 $\pm$ 0,9	0,01	6,12 $\pm$ 0,6	0,01

n = Numărul șoarecilor din lot

Es = Eroarea standard

p = Probabilitatea fără de martori neiradiati

0,01 = Foarte semnificativ

0,02 = Deplin semnificativ

0,05 = Semnificativ

talului (12). Aceeași iradiere pare să potențeze efectul inhibant al largactilului, dar nu și al morfinei. Reluind cunoștințele asupra efectului hipotalamo-reticulat al pentotalului și al largactilului (dar prea redus al morfinei), avem impresia că acțiunea substanței neurotrophe adăugată deregării agresive provocate de iradiere, este mai mare.

Cele trei substanțe radioprotectoare acționează printr-un mecanism comun, cel al hipoxiei relative, înduse în sistemul nervos central. În plus, largactilul și pentotalul par să interveni și prin compensarea deregării endocrine, în sensul efortului de a menține relațiile normale (în cazul nostru, raportul tiroidă/suprarenală). Pentotalul reușește să facă aceasta într-o măsură mai apropiată de raportul normalilor; largactilul realizează aceasta la valori mult mai mici, de unde, probabil, mai mică sa capacitate radioprotectoare.

Rezultatele obținute în cercetarea debitului circulator cerebral concordă, în general, cu testele metabolice. În cazul animalelor tratate cu morfină, există însă o neconcordanță care este dificil de explicat.

Faptul că toate trei substanțele neurotrophe dovedite radioprotectoare au un mecanism comun - hipoxia centrală, ca și uniformitatea acțiunii lor asupra fosfocaptării nervoase, precum și lipsa uniformității acțiunii lor asupra glandelor endocrine studiate, ne face să ne întărim ipotezele noastre anterioare (7,14), asupra mecanismului nervos central al radioprotecției exercitat la aceste substanțe cu acțiune neurotropă.

### Rezumat

Se cercetează efectul unor substanțe neurotrope, (morphina, largactil și pentotal), asupra fosfocaptării în creier, tiroidă și suprarenale, asupra iodocaptării măsurate in vivo la șoarecele alb și asupra debitului circulator cerebral. Se apreciază că aceste substanțe acționează la nivelul sistemului nervos central și printr-o scădere a metabolismului cerebral, demonstrată prin reducerea fosfocaptării atât la animalul iradiat cu doza de 700 R radiati Röntgen, cât și la cel neiradiat.

### BIBLIOGRAFIE

1. E.H.Betz - Contribution à l'étude du syndrome endocrinien provoqué par l'irradiation de l'organisme, Ed. Masson, Paris, 1956.
2. A.Bozac, Z.Uray, E. Bulbuk, V.V.Papilian - Prima Conferință de radiobiologie, București, p.51, 1964.
3. D.A.Danilova - Radiobiologija, 2, 115 (1962).
4. P. Derevenco, V.Derevenco - Endokrinologie, 45, 1-2, 25 (1963).
5. Vera Derevenco, P. Derevenco, I.Szantai, Z.Uray - Fiziol. norm. și pat., IX. 47, (1963).
6. Vera Derevenco, V.V.Papilian, Z.Uray, A.Bozac, M.Fărcașanu.- Prima Conferință de radiobiologie, București, p.66 (1964).

7. M. Fărcășanu, Vera Derevenco, R.Abrudan, M.Spirchez,  
Z.Uray - Prima Conferință de radiobiologie, București, p.45 (1964).
8. S.V.Gasteva, O.V.Malinovski, L.F.Pomazanskaia, I.N.Ulibina, D.A.Setverikov - Trudî Inst.Fiziol. Pavlova, 8, 533 (1959)
9. C.Gherman, T.Holan - Fiziol.norm. și pat., II, 365 (1965)
10. L.S.Goodman, S.Giiman - Bazele farmacologice ale terapeuticii Ed.medicală, București (1960).
11. G.Hevesy - Radioaktivnîie indikatorî, Moskova (1950).
12. St.Milcu, A. Lupulescu, V.Săhleanu, R.Holban - Fiziologia experimentală a glandei tiroide, Ed.Acad.R.P.R., București (1963).
13. D.Nicholls, C.Graham - Canad.J.Biochem, 35, 41 (1957)
14. Z.Uray, R.Abrudan, Vera Derevenco - Prima Conferință de radiobiologie, București, 47 (1964)
15. V.Varteresz - Sugarbiologia, Ed.medicina, Budapesta (1963).
16. J.Watras - Radiobiol. Radiother. (Berl.) 2, 51 (1962)
17. S.R. Zubkova, N.M.Cernavskaja - Dokt.Akad.Nauk, SSSR  
Otd. Biol., 162, 1 114 (1959).

STUDY OF ACTION MECHANISM OF SOME NEUTROTROPE  
RADIOPROTECTING SUBSTANCES

Z.Uray, Vera Derevenco, M.Fărcășanu, Rodica Abrudan,  
Cornelia Gherman, T.Holan

SUMMARY

The effect of some neutrotrope substances (shown elsewhere as having a radioprotecting effect) on phosphouruptake in the nervous system, in thyroid, in adrenals, on iodineuptake measured in vivo in white mice and on cerebral circulatory flow is investigated. These substances are estimated to act in the central nervous system by means of a common mechanism, that of central hypoxy and by a decrease of cerebral metabolism, demonstrated by the decrease of phosphouruptake both in the irradiated animals with a dose of 700 R Roentgen rays, and in the non-irradiated animal.