

EFECTO RADIOSENSIBILIZANTE DEL SUCCINATO DE CICLOHEXANOL

Dr. EDUARDO CUSTODE, Dr. ARMIN UTRERAS y Dr. PLUTARCO NARANJO
Dpto. de Investigaciones, Laboratorio «LIFE» y SOLCA, Quito.

La aplicación terapéutica de las radiaciones Roentgen en el tratamiento de las neoplasias malignas, tiene como fundamento la mayor susceptibilidad de éstas a la radiación, en comparación con la de los tejidos sanos.

Existe una verdadera escala terapéutica de radiosensibilidad: desde los tejidos tumorales que son los más sensibles y por tanto, los que más fácilmente se destruyen, hasta los tejidos sanos peritumorales, que son los más resistentes. Es a expensas de esta graduación de efecto que se puede actuar sobre la célula tumoral, sin alterar los tejidos sanos circundantes.

Se han investigado varios métodos para ampliar este "intervalo", o sea la diferencia entre la sensibilidad del tejido tumoral con el tejido sano circundante, con el objeto de aumentar las posibilidades terapéuticas de la irradiación. Uno de estos métodos, es el de los radiosensibilizantes, drogas que tienen la capacidad de aumentar la sensibilidad del tejido neoplásico a la acción lesiva de la radiación, sin aumen-

tar concomitantemente la sensibilidad del tejido sano.

Es importante, desde el punto de vista terapéutico, mantener la integridad de los tejidos normales que forman el lecho tumoral, porque tales tejidos son los que posteriormente permiten el proceso de reparación y cicatrización así como también la eliminación de los últimos elementos blastomatosos en necrobiosis que, al quedar en el lecho tumoral, podrían reproducir el tumor.

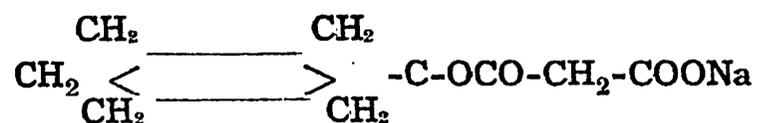
Otro de los aspectos que debe considerarse es la desviación del metabolismo normal que se observa en los casos de cáncer. El tejido canceroso obtiene el 90% de la energía para sus procesos metabólicos de la glicolisis anaeróbica, contrastando con los fenómenos fundamentalmente aeróbicos de los tejidos sanos. De esto se deduce que una sustancia capaz de inhibir la glicolisis anaeróbica, debe disminuir la nutrición de las células neoplásicas en mayor proporción que las células normales. La interferencia puede llevarse a cabo en un punto cualquiera de la degradación

hidrocarbonada, ya sea por inhibición enzimática o por competición de substratos.

El presente trabajo tuvo por objeto valorar el efecto radiosensibilizante del ciclohexanol. Varios trabajos experimentales han demostrado la actividad inhibidora de la glicolisis anaeróbica de esta substancia, tanto por favorecer la formación de ácido láctico, como por inhibir la actividad mitótica de las células neoplásicas.

MATERIALES Y METODOS

Se utilizó como substancia básica el ciclohexanol bajo la forma de succinato sódico, que tiene la siguiente fórmula estructural:



Como animales de experimentación se emplearon ratones blancos de 8 semanas de edad, de un peso promedio de 20 gm, mantenidos en condiciones nutricionales y ambientales similares.

Se realizaron las siguientes investigaciones

1) Dosis letal media (DL₅₀) de ciclohexanol. Para esta determinación se emplearon 13 grupos de 10 ratones cada uno. Se inyectó a cada animal, por vía subcutánea, solución acuosa al 30% de la substancia en estudio, en dosis que variaron desde 1 hasta 4 gm/kg, con intervalos de 0,25 gm/kg entre un grupo y otro. Luego de la inyección se mantuvieron los animales en observa-

ción por 24 horas, tiempo después del cual se determinó el número de sobrevivientes y muertos.

2) Dosis letal media después de 30 días de la irradiación (DL_{50/30})

a) Ratones no tratados previamente con ciclohexanol. Se emplearon 11 lotes de 10 animales cada uno. Se los irradió con terapia profunda y con dosis de irradiación que variaron desde 400 hasta 1.000 r. Después de la irradiación se mantuvieron a los animales bajo observación durante 30 días.

b) Ratones previamente tratados con ciclohexanol. Se emplearon 7 lotes de 10 animales cada uno. En los 5 días previos a la irradiación se administró diariamente dosis de 300 mg/kg de ciclohexanol, por vía subcutánea.

La irradiación varió desde 550 hasta 700 r. con intervalos de 25 r. entre cada grupo. Como grupos de control se utilizaron 7 lotes de 10 ratones cada uno, previamente inyectados con agua destilada durante 5 días.

En todos los casos, la irradiación se realizó en una sola sesión con un aparato General Electric "Maximar-III-250" con los siguientes factores técnicos: 15 mA, 220 Kv., d. F. p. 25 cm., Filtro 0.5 mm de Cu. De uno a otro grupo sólo se varió el factor tiempo de irradiación.

3) Dosis de depilación por irradiación: se utilizaron 6 lotes de 5 ratones cada uno. Se los irradió con terapia superficial y en dosis que variaron desde 600 hasta 2.000 r.

La irradiación se efectuó en una se-

sión única con un aparato Siemens "Dermopan" y con los siguientes factores técnicos: 25 mA, 50 kv., localizador de 15 cm., con ventana de 1 cm. de diámetro y filtro de 1 mm. de aluminio. La irradiación se hizo a razón de 425 r. por minuto.

Se mantuvieron los animales bajo observación por 25 días después de la irradiación.

4) Investigación del tiempo que tarda en reaparecer el pelo en ratones depilados manualmente en la región del lomo y no irradiados.

5) Investigación del tiempo que tarda en reaparecer el pelo, aparición de eritema o ulceración cutánea en animales depilados manualmente y luego irradiados. Se utilizaron 3 grupos de animales:

- a) Sin tratamiento previo a la irradiación.
- b) Animales tratados con inyección subcutánea de ciclohexanol en solución al 5% y en dosis de 300 mg/kg.
- c) Animales tratados con inyección subcutánea de 0.12 cc. solución salina.

Los factores técnicos de irradiación fueron iguales a los utilizados en la investigación de la dosis de depilación. La dosis de irradiación varió desde 400 hasta 1.400 r. Cada grupo fue dividido para el efecto en 6 subgrupos de 5 ratones cada uno.

6) Efecto de la irradiación sobre los fetos de ratonas gestantes:—Previamente se identificó y comprobó mediante el aumento del peso, el estado de preñez en cada una de las ratonas.

Al 14° o 15° día de gestación se administró, por vía subcutánea, ciclohexanol en las siguientes dosis: 0, 5; 1 y 1.5 gm por kg.

Para el efecto se constituyeron tres grupos de 5 ratonas cada uno. Tres horas después de la inyección, cada ratona recibió una dosis total de irradiación de 500 r. Se empleó el mismo aparato con los mismos factores técnicos utilizados para la determinación de la $DL_{50/30}$.

Además se consideraron dos grupos de control: uno al que fue administrado exclusivamente solución salina: 0,2 cc. por vía subcutánea y que también fue irradiado según las condiciones señaladas anteriormente. El otro grupo recibió solamente la dosis de 1 gm de ciclohexanol por kg y no recibió irradiación.

RESULTADOS

1) Determinación de la DL_{50} . Por vía subcutánea, la DL_{50} fue de $2,48 \pm 0,16$ gm/kg, cifra que demuestra que el ciclohexanol es una sustancia relativamente poco tóxica.

2) Dosis letal media de radioterapia en 30 días de observación ($DL_{50/30}$). Se obtuvo un valor de $655 \pm 7,36$ r. en ratones normales sin previa administración de la droga.

En animales tratados con ciclohexanol durante los 5 días previos a la irradiación, el valor obtenido fue de $655 \pm 6,45$ r.

En los animales de control a los cuales se administró agua destilada por vía subcutánea, durante los 5 días previos

nor proporción. La diferencia fue muy evidente sobre todo con el grupo que recibió la dosis más alta: 1,5 gm/kg, según se observa en la Tabla III.

DISCUSION

Una vez determinada en 2.48 gm/kg la DL_{50} de ciclohexanol por vía subcutánea, en todas las experiencias subsiguientes se utilizaron dosis/kg no letales.

El valor de 655 r. ($DL_{50/30}$) de irradiación fue igual para los 3 grupos de animales; los irradiados y aquellos que recibieron previamente ciclohexanol o agua destilada. Estos datos permiten

afirmar que ciclohexanol, en la forma utilizada en esta experiencia, no produjo sensibilización a la irradiación aplicada a tejidos o células normales adultas.

Las dosis muy elevadas de radiación (2.000 r.) no alteran los folículos pilosos en animales, que conservan el pelo; es decir que no son capaces de producir depilación. En cambio, en animales depilados manualmente en forma previa a la irradiación, dosis bajas (600 r.) ya producen alteraciones manifiestas. Dentro de este aspecto, tampoco se encuentra una evidente sensibilización en los animales tratados con ciclohexanol, ya que no se observó aumento de la radiosensibilidad cutánea ni reduc-

TABLA II

DIFERENCIAS ENTRE EL NUMERO DE NACIDOS VIVOS, NACIDOS MUERTOS Y SOBREVIVIENTES EN GRUPOS DE RATONAS TRATADAS CON CICLOHEXANOL MAS RADIACION Y EN GRUPOS CONTROLES

Tratamiento previo	Nacidos vivos	Nacidos muertos	Sobrevivientes
Grupo control (solución salina + irradiación)	27 (90%)	3 (10%)	16 (53.3%)
Grupo de control (Ciclohexanol sin irradiación)	32 (100%)	0	28 (87.4%)
Grupos de tratamiento Ciclohexanol + irradiación			
0.5 gm/kg	14 (48.2%)	15 (51.8%)	0
1.0 "	5 (21.73%)	18 (78.27%)	0
1.5 "	18 (54.54%)	15 (45.46%)	0

a la irradiación, el valor obtenido fue también $655 \pm 2,24$ r.

3) Dosis de depilación por irradiación. No se obtuvo depilación en los animales tratados con irradiación, a pesar de haberse sobrepasado en mucho la dosis teórica de depilación. Se consideró que la presencia del pelo es suficiente protección para impedir que la acción lesiva de las radiaciones afecte los folículos pilosos, por lo que se deci-

dió depilar a los animales antes de la irradiación.

4) En ratones depilados manualmente y no irradiados, la reaparición del pelo se observó entre el 7º y 8º día después de la depilación.

5) En cuanto al tiempo de reaparición del pelo, aparición de eritema o de úlcera subcutánea en ratones depilados manualmente e irradiados, los resultados están esquematizados en la Tabla I.

TABLA I

EFECTO DEPILATORIO DE LA IRRADIACION EN ANIMALES TRATADOS PREVIAMENTE CON CICLOHEXANOL Y EN ANIMALES DE CONTROL

Dosis irradiación	Reaparición del pelo. Tiempo promedio días			Porcentaje aparición eritema			Porcentaje aparición de ulceración		
	a	b	c	a	b	c	a	b	c
400 r	11.8	9.8	9.2	0	0	0	0	0	0
600	15.8	13.0	15.2	60	60	100	0	0	0
800	15.8	17.6	19	100	100	100	0	20	2
1.000	22	24.2	27.6	100	100	100	60	0	20
1.200	—	—	—	100	100	100	40	60	80
1.400	—	—	—	100	100	100	40	60	60

NOTA: La columna a corresponde a los animales no tratados, la columna b a los tratados con inyección previa de ciclohexanol y la columna c, a los tratados con inyección previa de solución salina.

6) Los datos obtenidos con relación al efecto de la irradiación sobre los fetos de ratonas gestantes, en cuanto se refiere al número de nacidos vivos, nacidos muertos y sobrevivientes, se resumen en la Tabla II.

Por otro lado, se observó una marcada diferencia en el aumento de peso

que presentaron las ratonas a partir de la irradiación. Aquellas del grupo control, que recibieron previamente solución salina, presentaron un aumento de peso que puede considerarse dentro de límites normales; en tanto que las tratadas con diferentes dosis de ciclohexanol aumentaron su peso en me-

nor proporción. La diferencia fue muy evidente sobre todo con el grupo que recibió la dosis más alta: 1.5 gm/kg, según se observa en la Tabla-III.

DISCUSION

Una vez determinada en 2.48 gm/kg la DL_{50} de ciclohexanol por vía subcutánea, en todas las experiencias subsiguientes se utilizaron dosis/kg no letales.

El valor de 655 r. ($DL_{50/30}$) de irradiación fue igual para los 3 grupos de animales; los irradiados y aquellos que recibieron previamente ciclohexanol o agua destilada. Estos datos permiten

afirmar que ciclohexanol, en la forma utilizada en esta experiencia, no produjo sensibilización a la irradiación aplicada a tejidos o células normales adultas.

Las dosis muy elevadas de radiación (2.000 r.) no alteran los folículos pilosos en animales, que conservan el pelo; es decir que no son capaces de producir depilación. En cambio, en animales depilados manualmente en forma previa a la irradiación, dosis bajas (600 r.) ya producen alteraciones manifiestas. Dentro de este aspecto, tampoco se encuentra una evidente sensibilización en los animales tratados con ciclohexanol, ya que no se observó aumento de la radiosensibilidad cutánea ni reduc-

TABLA II

DIFERENCIAS ENTRE EL NUMERO DE NACIDOS VIVOS, NACIDOS MUERTOS Y SOBREVIVIENTES EN GRUPOS DE RATONAS TRATADAS CON CICLOHEXANOL MAS RADIACION Y EN GRUPOS CONTROLES

Tratamiento previo	Nacidos vivos	Nacidos muertos	Sobrevivientes
Grupo control (solución salina + irradiación)	27 (90%)	3 (10%)	16 (53.3%)
Grupo de control (Ciclohexanol sin irradiación)	32 (100%)	0	28 (87.4%)
Grupos de tratamiento Ciclohexanol + irradiación			
0.5 gm/kg	14 (48.2%)	15 (51.8%)	0
1.0 "	5 (21.73%)	18 (78.27%)	0
1.5 "	18 (54.54%)	15 (45.46%)	0

TABLA III

**DIFERENCIAS EN EL AUMENTO DE PESO REGISTRADO EN RATONAS
GESTANTES TRATADAS CON CICLOHEXANOL, MAS RADIACION
Y EN UN GRUPO CONTROL**

Madre	Grupo con ciclohexanol 1.5 gm/kg.	Grupo control (solución salina)
1	1 gm.	8.5 gm.
2	1 „	5.4 „
3	3 „	6.8 „
4	2 „	4.4 „
5	2.5 „	5.4 „
Total	10.5 „	30.5 „

ción de la dosis eritema de irradiación.

En lo relacionado al efecto del ciclohexanol asociado a la irradiación en fetos de ratonas gestantes, se observaron algunas interesantes diferencias con respecto a los grupos de control: los promedios de nacidos vivos en los 2 grupos de control (solución salina + irradiación y ciclohexanol sin irradiación), fueron de 90% y 100%, respectivamente. En cambio, en los 3 grupos de ratonas que recibieron ciclohexanol en dosis de 0,5; 1 y 1,5 gm/kg, estos promedios fueron muy inferiores, oscilan entre 21.73% y 54.54% y no siguen una relación dosis-efecto evidente, ya que el mayor número de sobrevivientes se obtuvo con la dosis más alta de ciclohexanol. Este fenómeno puede deberse a varias causas que es necesario analizarlas.

La dosis total de irradiación que recibe cada uno de los fetos, no siempre debe ser constante en virtud de la diversa localización que éstos tienen en la cavidad pélvico-abdominal de la ma-

dre, o en virtud de las variaciones que normalmente se observan en cuanto al grado de su propio desarrollo; pues, es frecuente encontrar fetos o recién nacidos con un peso muy inferior al que presentan los restantes elementos de una misma camada.

Por otro lado, en estos casos, es muy alta la incidencia de abortos o expulsión prematura de fetos muertos o no viables, que inmediatamente son devorados por la madre. Este hecho, especialmente cuando no puede constatar-se, por la imposibilidad de mantener una vigilancia permanente, puede alterar notoriamente el número de nacidos vivos y el número de crías por camada, y los correspondientes valores promedios.

RESUMEN

El presente trabajo tuvo por objeto valorar el efecto radiosensibilizante del ciclohexanol, droga antagonista de la

glucosa. Se consideraron, fundamentalmente, los aspectos de letalidad, efecto depilatorio y acción sobre los fetos en ratonas gestantes.

Se encontró que la dosis letal media de radioterapia, en 30 días de observación ($DL_{50/30}$), fue de 655 r., tanto para los animales de control como para los depilados manualmente antes de la irradiación, dosis menores de 600 r. ya fueron capaces de producir aumento del tiempo de regeneración pilosa, eritema y úlcera cutánea. No hubo diferencias significativas entre los animales de control y aquellos tratados con ciclohexanol.

Cuando se irradió a hembras preñadas, se encontró que mientras las que recibieron ciclohexanol dieron a luz sólo 21 a 54% de crías vivas, que murieron en los siguientes días, las hembras que no recibieron la droga dieron a luz 90% de crías vivas y hubo una supervivencia del 53%, lo que demostraría que el ciclohexanol produce efecto radiosensibilizante sobre tejidos jóvenes.

SUMMARY

This work was designed to investigate the radiosensitizing effect of cyclohexanol, an antagonist of glucose. Lethality, effects on depilation and upon fetus in pregnant mice, were studied.

It was found that the mean lethal dose of radiotherapy, in a 30 days period ($LD_{50/30}$) was 655 r.; for both the control group and the cyclohexanol treated sample.

Dose such as 2000 r. have no depilatory effect; however, dosis of 600 r. were already capable of reducing the hairy regeneration, and produced erythema and skin ulcers in those who were artificially depilated before radiation. We did not find differences between control animals and those treated with cyclohexanol.

When we radiated pregnant mice we found that those who received cyclohexanol delivered only between 21% and 54% of alive products, which died in the following days; those animals who did not receive the drug delivered 90% of alive offspring and 53% remained alive, fact which demonstrated that cyclohexanol produced an affect of radiosensitization upon young tissues.

REFERE

- 1) SCOLARI, S., BOITI, NANNELLI, N. y VALLECCHI, C.: Primer Ricerche Sperimentali e Osservazioni cliniche sull'impiego di un radio sensibilizante nella Radioterapia dei Tumori. Rassegna Dermatol. e Sifilog. 12 (N 5). 1959.
- 2) VALLECCHI, C., PODIO: Lundegaard's effect provoked by hexanol succinate and cycle-hexanol succinate. Italian Gen. Rev. Dermatol. 3: 44, 1962.
- 3) VALLECCHI, C., NANNELLI, N.: Azione de Cicloesanolo sulla Mitosi. Ness. Dermat. Sif., 14: 189, 1961.
- 4) SCOLARI, NANNELLI, S., VALLECCHI, C.: Epitelioni Radioresistenti e Recidivi Terapia Radiológica con Radiosensibilizantes Ital. Gen Rev. Dermatol. 3 (Nº 1), 1962.
- 5) POGGI, R., ROGNONI, F.: Ricerche Sperimentali su un Nuovo Radiosensibilizante: cicloesanolo succinato. Actas del