

Instituto de Fisiología. — Facultad de
Ciencias Médicas de Buenos Aires.

Acción del podofilino sobre los glóbulos blancos

por **Héctor J. Sánchez Caballero** y **Jorge Ergueta Collao**

(Recibido para publicar el 15 de enero de 1949)

Existen sustancias que, a pesar de ser muy diferentes en su constitución química y en sus propiedades farmacológicas, tienen la característica de detener la reproducción de las células. Estos cuerpos han recibido de Dustin (1) el nombre de Venenos Carioclásicos, y Ludford (2) ha dado en llamarlos Tóxicos Mitóticos o Substancias Mitoclásticas. La acción fundamental ejercida por los tóxicos mitóticos es la inhibición del proceso cariocinético durante el período de la metafase; con su presencia impiden que los cromosomas ya divididos puedan separarse y emigrar a los polos, como lo hacen normalmente y, en consecuencia, la anafase no tiene lugar. Como resultado de esta división frustrada queda una sola célula cuyo núcleo tiene un número doble de cromosomas, los cuales se agrupan formando un ovillo irregular.

Numerosas son las sustancias que pueden actuar como venenos carioclásicos. Enumeraremos en primer término el cólchico por ser el más activo, la tripaflavina, el metilsulfonal, el feniluretano, el metiluretano, muy en boga en la actualidad por su aplicación en el tratamiento de las leucemias; el hidrato de cloral, el arsénico y sus derivados, y muchos otros con similar actividad mitoclástica. En el año 1908, Dixon y Malden (3), estudiando las acciones farmacológicas de la colchicina, particularmente en lo que se refiere a la médula ósea, pueden ver que la inyección de esta droga por vía subcutánea determina, en el perro y en el conejo, una marcada leucopenia, aunque ésta es sólo transitoria y se sigue de leucocitosis. Lits (4) que ha estudiado en forma completa las lesiones celulares provocadas por la colchicina, encuentra que ésta produce en la sangre de la laucha una polinucleosis elevada con formas inmaduras circulantes y que puede llevar a la destrucción de los tumores injertados en el mismo animal. En 1946, Haddow y Sexton (5), demuestran la acción frenadora que tiene el etiluretano sobre el crecimiento del carcinoma experimental de la rata. En el mismo año Paterson y colaboradores (6), en su trabajo sobre la acción del uretano en las leucemias, estudian también el efecto de esta droga sobre las células sanguíneas de pacientes no leucémicos y encuentran que en seis casos

de once, los glóbulos blancos se reducen durante el tratamiento. Moeschlin (7) en 1947, comprueba que en personas normales, 4 gramos diarios de uretano, administrados durante varias semanas, determinan solamente una ligera disminución de los leucocitos y que en conejos normales un gramo diario por cada 4 kg. de peso, no produce, después de 92 días de tratamiento, ninguna modificación de los glóbulos blancos.

En 1942, Kaplan (8) publicó sus observaciones sobre el tratamiento de los papilomas venéreos por medio del podofilino en aplicación local. Culp y el mismo Kaplan (9) pensaron que esta droga actuaría por irritación, determinando el espasmo de los vasos del papiloma con la consiguiente isquemia y necrosis local. Pero son King y Sullivan (10) quienes aclaran posteriormente el modo de actuar del podofilino; aplicándolo sobre piel normal humana y de conejo comprueban en la epidermis alteración de los núcleos celulares, con desintegración de la cromatina principalmente durante la metafase; el protoplasma también pierde su aspecto normal; se vacuoliza y se pone edematoso. Dan a estas células patológicas el nombre de "Células de Podofilino" y hacen resaltar su parecido con las llamadas "figuras de colchicina" determinadas por la droga del mismo nombre. Concluyen entonces identificando la acción del podofilino con la de la colchicina cuando aquél se usa localmente. A similares conclusiones llega Cordero (11) estudiando la histopatología de la piel tratada con colchicina y con podofilino. En resumen el podofilino es, en la piel, un tóxico mitótico.

Los hechos expuestos nos hicieron pensar en la posibilidad de que el podofilino pudiera tener alguna acción sobre los glóbulos blancos como la tienen la colchicina y el uretano. Por esta razón decidimos estudiar sus efectos sobre los leucocitos de la rata; los resultados obtenidos son el objeto que motiva esta publicación.

La droga

El podofilino es la sustancia resinosa extraída del podófilo, rizoma del *Podophyllum Peltatum* L. o Mandrágora, planta vivácea que crece en el norte y centro de los Estados Unidos. Se presenta como un polvo amorfo, de color amarillo oscuro, de sabor amargo y olor débil. No es un compuesto bien definido, por lo cual su acción farmacológica puede no ser uniforme. Es soluble en alcohol, dando soluciones opalescentes y de reacción débilmente ácida. Poco soluble en éter y cloroformo, es prácticamente insoluble en agua.

Viehöver y Mark (12) han hecho un interesante estudio del podofilino, puntualizando sus propiedades físicas, químicas y fisiológicas; anotan que de esta resina sólo se ha obtenido una sustancia activa cristalizable: la podófilotoxina. Esta por hidrólisis alcalina da dos productos cristalinos: la picropodofilina y el ácido podofilí-

nico. Según Soto (13), cuando se ingiere podofilino, en el medio alcalino intestinal, favorecido tal vez por acción de la bilis, la podófilotoxina se desdobra en picropodofilina y ácido podofilínico. La podófilotoxina pura tiene propiedades predominantemente tóxicas; la picropodofilina, en cambio, sería la responsable de la acción laxante o purgante de la resina; experimentalmente irrita, edematiza y luego destruye la mucosa del canal digestivo de la daphnia (12). El ácido podofilínico, por su parte, sólo tiene un efecto ligeramente tóxico y dudosas propiedades laxantes. Dice Soto (13) que la inyección subcutánea de podofilino produce derrames sanguíneos cerca del sitio de la inyección y hemorragias en la mucosa intestinal, cosa que también observamos nosotros, como veremos más adelante.

Para Sullivan y King (14) la substancia responsable del efecto citotóxico del podofilino es la podófilotoxina, ya que ésta, como vimos antes, es susceptible a la hidrólisis alcalina y las soluciones de podofilino en hidrato de sodio o de potasio resultan inertes cuando se aplican a los condilomas. Esto se confirma en el trabajo de Sullivan y Blanchard (15), quienes constatan que la podófilotoxina pura, aplicada sobre la piel normal produce las mismas alteraciones macro y microscópicas que el podofilino y que también determina la involución de los condilomas.

La experiencia

Hemos usado en nuestras experiencias el podofilino (*) en solución hidroalcohólica, disolviendo 100 mgs. de polvo en 10 ml. de alcohol etílico de 95°, y agregando luego agua destilada hasta completar 100 ml. Se tiene de este modo una solución de la cual 1 ml. corresponde a 1 mg. de droga. Así preparado resulta un líquido opalescente, de color gris amarillento, que no precipita y al cual esterilizamos al baño de María.

Como animal de experimentación utilizamos ratas blancas adultas, machos y hembras indistintamente y con un peso entre 125 y 245 gramos.

En un primer lote de 5 ratas sanas (ver Cuadro núm. 1), con un peso promedio de 230 gs., comenzamos las inyecciones por vía intraperitoneal, una cada dos días, recibiendo los animales las siguientes dosis por inyección: la rata I: 0'25 mgs.; las ratas II y III: 0'50 mgs. y las ratas IV y V: 1 mg. Al quinto día de inyección las ratas IV y V presentan diarrea; por esta razón a partir de la cuarta inyección las dosis recibidas por la rata IV fueron disminuídas a la

(*) Agradecemos a los Laboratorios Abbott, quienes nos han donado gentilmente el podofilino usado en este trabajo.

CUADRO N.º 1 (Lote n.º 1)						
Días	0	12	24	31	40	Druga total inyectada
Rata n.º 1		8.6	7.1	6.1	5.2	7 mgrs.
» » 2		7.9	6.8	5.8	4.5	8,75 mgrs.
» » 3		8.2	6.9	5.2	4.7	8,75 mgrs.
» » 4		9.2	8.0	—	—	
» » 5		8,5	6.3	4.9	—	
Leucocitos × 1.000 Promedio	9.3	8.4	7.0	5.5	4.8	

mitad. Efectuamos así en doce días, 7 inyecciones a cada animal. Al mismo tiempo, se hicieron recuentos de glóbulos.

Continuamos con las inyecciones, pero en forma más espaciada, debido a la diarrea, que por este entonces presentan todas las ratas; en doce días hacemos solamente tres inyecciones a cada una: 0'25 mg. por vez a las 4 primeras ratas y 0'50 mgs. a la rata V. Habiendo disminuído la diarrea, hacemos en siete días más, 5 inyecciones de 0'50 mgs. cada una. La rata IV muere a la segunda inyección, presentando en la necropsia un hígado muy congestivo de color violáceo oscuro; el intestino delgado hiperémico y el grueso de color rojo vinoso.

En los nueve días siguientes efectuamos 4 inyecciones de 0'50 miligramos cada una, haciéndolas por vía subcutánea en los flancos, en vez de seguir usando la vía intraperitoneal. Dos días después de la primera inyección muere la rata V, presentando iguales lesiones que la muerta anteriormente, y teniendo además el hígado muy aumentado de tamaño; al final de este tiempo los recuentos son los siguientes: rata I: 5.200 gl., rata II: 4.500 gl. y rata III: 4.700 gl. Considerando los resultados en estas tres ratas tenemos que la cifra promedio inicial de 9.400 glóbulos blancos, baja a un promedio de 4.800 glóbulos, es decir que hay una reducción del 50 % aproximadamente, siendo la cantidad total inyectada de 5 mgrs. (rata I) y 6'75 miligramos (ratas II y III), en 40 días.

Hacemos notar que estas ratas presentan después de la segunda inyección por vía subcutánea, escaras necróticas en los flancos, que se desprenden luego dejando una ulceración que se repara lenta-

mente. Los recuentos efectuados a estos animales después de dos meses de suspendidas las inyecciones son normales.

En un segundo lote de 4 ratas (ver cuadro núm. 2), con objeto de evitar la diarrea, usamos una solución preparada en la misma forma, pero diluida de modo que en 1 ml. hubiera 0'50 mgs. de

CUADRO N.º 2 (Lote n.º 2)							
Días	0	8	20	36	48	60	75
Rata n.º 1		9.4	9.1	9.1	9.0	7.5	5.4
» » 2		9.1	8.3	8.0	8.3	7.1	6.2
» » 3		9.6	9.6	9.0	7.8	6.2	6.1
» » 4		9.1	8.4	8.4	8.1	7.3	5.9
Leucocitos × 1.000 Promedio	9.5	9.3	8.8	8.6	8.3	7.0	5.9
Droga total inyectada: 10,50 mgs. por rata.							

podofilino. Las ratas, antes de la inyección, tienen un promedio de glóbulos blancos superior a 9.500 por mm.³ y un peso promedio de 148 gramos. En este lote todas las inyecciones se hacen por vía intraperitoneal. En los primeros 39 días recibe cada rata 12 inyecciones de 0'25 mgs. cada una.

Como al cabo de este tiempo las ratas tenían un aspecto normal, no han tenido diarrea y aumentaron de peso (152 gs. promedio contra 148 gramos del comienzo), decidimos aumentar la dosis a 0'50 miligramos por inyección; en los 35 días siguientes, cada animal recibió 15 inyecciones lo que hace 10'50 mgs. de podofilino en un lapso de 74 días. Los últimos recuentos de leucocitos efectuados al cabo de este tiempo dan: 5.400, 6.2000, 6.100 y 5.900 glóbulos. Es decir, un promedio de 5.900 glóbulos contra 9.500 del comienzo; la disminución ha sido del 38 %. En ningún momento las ratas de este lote han parecido enfermas ni han tenido diarrea.

En un tercer lote de 5 ratas (ver cuadro núm. 3), los resultados también han sido concluyentes. Eran animales con peso medio de 219 gs. y su sangre tenía un promedio de 10.000 leucocitos por mm.³ Recibieron en sesenta días, 24 inyecciones cada animal, siendo la dosis total de podofilino inyectada a cada rata de 10'50 mgs. El

CUADRO N.º 3 (Lote n.º 3)					
Días	0	21	35	48	60
Rata n.º 1		8.9	9.1	7.2	6.1
» » 2		9.3	8.0	6.9	5.3
» » 3		10.1	8.5	6.2	5.4
» » 4		10.2	9.3	7.1	6.1
» » 5		9.2	9.4	6.3	5.8
Leucocitos × 1.000 Promedio	10.0	9.5	8.8	6.7	5.7
Droga total inyectada: 10,50 mgs. por rata					

promedio de los recuentos al cabo de los sesenta días fué de 5.740 glóbulos blancos; la reducción ha sido del 42 % aproximadamente. Estas ratas tampoco han presentado diarrea y su aspecto es completamente normal.

Conclusiones

- 1) El podofilino en solución hidroalcohólica, inyectado por vía parenteral y en dosis totales entre 6'75 y 10'50 mgs., a la rata blanca normal, adulta, determina constantemente después de un tiempo que oscila entre 40 y 74 días una acentuada leucopenia.
- 2) La disminución de los leucocitos oscila entre el 38 y el 50 %.
- 3) Esta nueva acción farmacológica del podofilino que aquí se describe, lo relaciona a los tóxicos mitóticos, probablemente en forma más concluyente que su acción sobre la piel.
- 4) Sobre los glóbulos blancos el podofilino parece ser más activo que otras drogas usadas: la leucopenia determinada por el cólchico es muy fugaz y se sigue de enorme leucocitosis (3), (4). El uretano no modifica la fórmula normal (7) o si influye (6), no lo hace muy intensamente y en todos los casos como el podofilino.

Resumen

Se estudió la acción del podofilino sobre el número de leucocitos de la rata blanca. La inyección intraperitoneal, en dosis totales de 6 a

10 mgs., repartidas en períodos de 40 a 75 días provoca una reducción constante de los leucocitos circulantes que puede llegar al 50 % de las cifras iniciales.

Summary

The action of podophyllin on the number of leucocytes in the white rat has been studied. The intraperitoneal injection in total doses of 6-10 mg. distributed in periods of 40-75 days produces a constant reduction of the circulating leucocytes which may reach 50 % of the initial figures.

Bibliografía

1. Dustin, A. P.: *Le Sang*, **12**, 677 (1938).
2. Ludford, *Arch. Zellforsch.*, **18**, 411 (1936). (Citado en 10.)
3. Dixon, W. E. y Malden, W.: *J. Physiol.*, **37**, 50 (1908).
4. Lits, F. J.: *Arch. Int. Med. Expérin.*, **11**, 811 (1936).
5. Haddow, A. y Sexton, W. A.: *Nature*, **157**, 500 (1946).
6. Paterson, E., Haddow, A., Thomas, I. y Watkinson, J. M.: *Lancet*, **250**, 677 (1946).
7. Moeschlin, S.: *Experientia*, **3**, 195 (1947).
8. Kaplan, I. W.: *New Orleans Med. Surg. J.*, **94**, 388 (1942). (Citado en 9).
9. Culp, O. S. y Kaplan, I. W.: *Ann. of Surgery*, **120**, 251 (1944).
10. King, L. S. y Sullivan, M.: *Science*, **104**, 244 (1946).
11. Cordero, A.: *Rev. argent. Dermat.*, **31**, 599 (1947).
12. Viehover, A. y Mack, H.: *J. Am. Pharm. A.*, **27**, 632 (1938).
13. Soto, M.: *Farmacología y Terapéutica*. El Ateneo, Bs. As. (1941), p. 1295.
14. Sullivan, M. y King, L. S.: *Arch. Dermat. Syph.*, **56**, 30 (1947).
15. Sullivan, M. y Blanchard, K.: *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, **81**, 65 (1947) en *Year Book Dermat. Syphil.* 1947), p. 497.

