

УДК 615.2: 616-006

Панько М.Ф., Іщенко В.Д., канд. вет. наук, доценти¹©
Панько М.М.², Левків М.Ю.³, лікарі ветеринарної медицини
(ischenkovd@ukr.net)

*Національний університет біоресурсів і природокористування України¹,
Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики та
ветеринарно-санітарної експертизи²,
Національний університет імені Т. Шевченка³, м. Київ*

ПРОТИПУХЛИННА АКТИВНІСТЬ ПРЕПАРАТУ МЕТАКОЛ *in vivo* ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО КАНЦЕРОГЕНЕЗУ У ЩУРІВ

У дослідях на лабораторних тваринах вивчено протипухлинну дію препарату метакол. Отримано результати, які вказують на те, що метакол можна використовувати як препарат, котрий має гальмівні властивості за пухлин різного генезу.

Ключові слова: *щурі, пухлини, канцерогенез, метакол, лімфосаркома Пліса, протипухлинна активність, гальмування росту пухлин*

Вступ. Зацікавлення у вивченні пухлин дрібних свійських тварин набуло систематизованого характеру з початку 60 років, коли утворились відповідні наукові підрозділи при інститутах онкологічного профілю (Національному інституті раку США, Онкологічному науковому центрі РАМН та інші), а також консультативна рада з ветеринарної онкології при Всесвітній організації охорони здоров'я. Цьому сприяли декілька причин. По – перше, пухлини, які виникають у свійських тварин завдають безпосередніх економічних збитків (пухлини великої рогатої худоби, птиці, службових і декоративних собак). По – друге, аналіз спонтанних пухлин у дрібних свійських тварин є адекватною моделлю для вивчення впливу канцерогенних чинників навколишнього середовища. Це пов'язано з тим, що багато пухлин дрібних свійських тварин є аналогами пухлин людини як за біологічними властивостями зляккісно трансформованих клітин, так і за перебігом захворювання. Крім того, коротша тривалість життя тварин, співставима з людською розповсюдженістю пухлинних захворювань (4 500 – 5 000 випадків в рік на 100 000 тварин за даними Національного інституту раку США, значно менше міграція, яка приводить до мешкання тварин в умовах відносно постійного впливу як позитивних, так і негативних чинників середовища), полегшують проведення епідеміологічних досліджень. І нарешті, лікування тварин зі спонтанними пухлинами є зручною, наближеною до людини моделлю для розробки та випробування нових лікарських препаратів і методів лікування що і спонукало нас до написання магістерської роботи в цьому напрямку.

Не дивлячись на існування в клінічній практиці більше 100 протипухлинних препаратів, ефективність більшості із них недостатня і спектр онкозахворювань, чутливих до хіміотерапії, обмежений. Тому залишається актуальним питання розробки нових більш активних препаратів, а також пошук речовин, ефективних за пухлин з первинною та набутою резистентністю до

терапії лікарськими засобами. У зв'язку з цим дозвіл про впровадження нової речовини з протипухлинною активністю на клінічне випробування приймається на підставі наступних критеріїв:

- новий механізм дії;
- висока протипухлинна активність *in vivo*;
- вибіркова цитотоксичність по відношенню до культур пухлинних клітин *in vivo* і ксенографтів пухлин людини;
- відсутність перехресної стійкості з відомими речовинами.

Мета роботи – у дослідях на лабораторних тваринах вивчити протипухлинну дію препарату метакол.

Матеріал і методи. У даний час загальноприйнята методика визначення протипухлинної дії зорієнтована на оцінку швидкості росту пухлини. При цьому як модель використовують перевиті *in vitro* пухлинні системи із генералізованим і швидким характером росту.

Результативність лікувальної дії визначали за гальмуванням росту основного вузла пухлини (масу пухлини, гальмування росту пухлини у процентах) та тривалістю життя тварин.

Збільшення тривалості життя (ЗТЖ%)

Порівняльна оцінка терапевтичного ефекту за тривалості життя дослідних та контрольних тварин проводиться після загибелі всіх тварин від пухлинного процесу, після чого визначається середня тривалість життя (СТЖ, доби) в дослідній та контрольній групах і вираховується збільшення тривалості життя.

$$\text{ЗТЖ\%} = \frac{\text{СТЖ}_д - \text{СТЖ}_к}{\text{СТЖ}_д} \times 100 \%$$

$$\Gamma/c = \frac{\text{СТЖ}_д}{\text{СТЖ}_к} \times 100 \%$$

де: **СТЖ_к** – середня тривалість життя тварин в контрольній групі, доби;

СТЖ_д – середня тривалість життя тварин у дослідній групі, доби;

Г/с – гальмівний ступінь, %

Таблиця 1.

Кількісні критерії оцінки протипухлинної активності

Г/с	< 125 %	0
	125-160 %	±
	161-200 %	+
	201-300 %, або 161-200 % при одноразовому введенні	++
	> 200 + ПР < 50 %, або 201-300 % при одноразовому введенні	+++
	> 300 + ПР > 50 %, або < 50 % при одноразовому введенні	++++

Мінімальні значення Г/с для тварин:

- з лейкозами – Г/с ≥ 175 %, ЗТЖ ≥ 75 %;
- з солідними пухлинами (злоякісного характеру) – Г/с ≥ 150 %, СТЖ ≥ 50 %.

Оцінка протипухлинного ефекту за гальмуванням росту пухлини

Проводиться визначення 2-3 розмірів пухлин у кожній тварини по групі, після чого визначають об'єм (V , мм^3) пухлини за формулами

$$V = a \cdot b \cdot c;$$

$$\text{або } V = (a \cdot b^2) / 2,$$

де a , b , c – довжина, ширина та висота вузла пухлини. Потім вираховують середній об'єм пухлини по групі ($V_{\text{середнє}}$).

Ступінь гальмування росту пухлини визначається за показниками ГРП і Г/с, що вираховуються за формулами:

$$\text{ГРП}\% = \frac{V_{\text{к}} - V_{\text{д}}}{V_{\text{к}}} \times 100 \%$$

$$\text{Г/с} = \frac{V_{\text{д}}}{V_{\text{к}}} \times 100 \%$$

де V – середній об'єм пухлини (мм^3) в досліді та контролі відповідно, на конкретний період;

Г/с – величина, зворотня ГРП, використовується у випадках, коли спостерігається стимуляція росту пухлини, а також у всіх випадках лікування внаслідок розвитку пухлини.

Таблиця 2.

Кількісні критерії оцінки інгібуючого ефекту на пухлинах тварин

ГРП	> 20 %	0
	< 20-50 %	\pm
	< 51-80 %	+
	< 81-90 %	++
	< 91-100 % + < 50 % ПР/виліковування	+++
	< 91-100 % + > 50 % ПР/виліковування	++++

Дослідження проведені в умовах віварію Київського Національного університету імені Т. Шевченка. Тварин утримували в спеціальних пластикових клітках по 5 тварин у кожній. Годівлю проводили стандартним комбікормом для лабораторних тварин, водопій не обмежували. Тварин у приміщенні утримували згідно вимог щодо проведення експериментальних досліджень на тваринах (щоденно контролювали температурний режим та вологість повітря тричі на добу).

У досліді було використано 30 безпородних білих щурів (по 15 тварин обох статей), підібраних за принципом аналогів, з масою тіла 180-200 г. Перед проведенням досліджень всі тварин були витримані на карантині. Тварини обох статей були розділені на три групи – контрольну і дві дослідні. В кожну дослідну групу входило по 5 самців або самок.

Після карантину тваринам дослідних груп у ділянці середньої верхньої частини хребта прищеплювали 20 %-й завис пухлинних клітин лімфосаркоми Пліса (по 0,2 мл на ізотонічному розчині підшкірно кожній тварині). Введення метаколу тваринам II дослідної групи починали з моменту прояву у більшості тварин пальпованих пухлинних вузликів (як правило на 4-5 доби після прищеплення). Схему дослідів представлено в табл. 3.

Таблиця 3.

Схема доклінічного дослідження метаколу

Групи тварин	Самки, n=5	Самці, n=5
Контрольна	- інтактні, без уведення пухлинних клітин і препарату	
I дослідна	- введення 0,2 мл 20 %-го завису пухлинних клітин лімфосаркоми Пліса; - досліджуваний препарат не вводили.	
II дослідна	- введення 0,2 мл 20 %-го завису пухлинних клітин лімфосаркоми Пліса; - застосування метаколу на 5-, 8-, 11-, 14- та 17-у доби підшкірно у дозі 0,4 мл.	

Ефективність лікувальної дії оцінювали не раніше 22-ї доби після щеплення (визначали розмір первинного пухлинного вузла та середню тривалість життя тварин). Клінічні спостереження здійснювали щоденно впродовж всього дослідного періоду.

Результати дослідження. У тварин обох дослідних груп, яким прищеплювали пухлини шляхом підшкірної ін'єкції 20%-го завису пухлинних клітин лімфосаркоми Пліса, на третю годину після ін'єкції спостерігали такі зміни клінічного стану: загальне пригнічення, слабе реагування на зовнішні подразники (звук, світло), скуйовдження шерстного покриву, збивання в кучу, відмова від корму та питної води, а у трьох тварин – тремор скелетної мускулатури, особливо м'язів тазових кінцівок. Однак, через чотири години після прояву перших змін клінічного статусу тварини стали проявляти інтерес до корму та питної води, реагували на зовнішні подразники без прояву агресії по відношенню один до одного. За результатами зовнішнього спостереження за тваринами дослідних груп їх було неможливо відрізнити від тварин, які слугували контролем (тварини, яких не прищеплювали пухлинними клітинами лімфосаркоми Пліса).

При спостереженні за дослідними тваринами впродовж п'яти діб принципової різниці в поведінці та клінічних ознаках ми не відмічали. Однак, у тварин (як самок, так і самців) уже на третю добу за місцем уведення почали з'являтися пухлинні вузлики, які виявляли методом пальпації. Пухлинні вузлики були виявлені у всіх піддослідних тварин. Розміри вузликів були в межах 6-7 мм. Вагомої різниці у величині пухлинних вузликів у самок та самців не відмічали.

Заміри пухлинних вузликів у тварин дослідних груп проводили на 10-у та 20-у доби досліджень. Отримані результати досліджень з оцінки протипухлинного ефекту щодо гальмування росту пухлин наведені в табл. 4.

Із представлених у таблиці результатів видно, що за ступенем гальмування росту пухлин досліджуваний препарат (метакол) при кількісній оцінці інгібуючого ефекту на пухлини лабораторних тварин належить до другого класу лікарських засобів (ГРП% < 20-50 %).

Таблиця 4.

Результати визначення протипухлинного ефекту за гальмуванням росту пухлин (V , мм³; $M \pm m$; $n=10$)

Групи тварин	Час дослідження, після прививання пухлини:		
	5 доба	10 доба	20 доба
I дослідна	6,80±1,25	18,51±3,45	28,42±8,24
II дослідна	7,45±2,40	13,40±4,34	16,41±5,38
ГРП%	9,5	27,6	42,2

Отримані результати свідчать про те, що іде процес гальмування росту пухлини при дії досліджуваного препарату метаколу. Проте він не є достатньо ефективним, щоб мати можливість рекомендувати препарат для широкого його використання для лікування при метастазуючих лімфосаркомах Пліса та інших подібних пухлинах.

Порівняльну оцінку терапевтичного ефекту за середньою тривалістю життя дослідних та контрольних тварин проводили після загибелі всіх тварин від пухлинного процесу та послідуєчого визначення показника середньої тривалості життя в дослідній та контрольній групах згідно методики. Було встановлено, що тривалість життя тварин контрольної (I дослідної) групи становить $24,5 \pm 5,65$ діб, а II дослідної (яких лікували метаколом) – $44,5 \pm 14,3$ діб. Відповідно показник збільшення тривалості життя становить 182 %, що вказує на те, що досліджуваний препарат за таким кількісним критерієм оцінки терапевтичного протипухлинного ефекту з визначенням гальмівного ступеню належить до третього класу речовин (Г/с – 161-200 %).

Висновки:

1. За ступенем гальмування росту пухлин досліджуваний препарат (метакол) при кількісній оцінці інгібуєчого ефекту на пухлини лабораторних тварин належить до другого класу лікарських засобів (ГРП% < 20-50 %).

2. Метакол можна використовувати як препарат, котрий має гальмівні властивості при пухлинах різного генезу у тварин (встановлений показник Г/с перевищує мінімальне допустиме значення 175 %).

Література

1. Пухлини дрібних свійських тварин: клініка, діагностика, лікування. / За ред. В.Ф. Чернуха, А.Й. Мазуркевича. – К.: ДІА, 2001. – 164 с.
2. The occurrence of tumors in domestic animals. NCI Monograph. — 1980. — v. 54. — 210 pp.
3. Цитологическая диагностика опухолей и предопухолевых процессов / Под ред. А.С Петровой. — М. : Медицина, 1985. — 304 с
4. Tilmant L.L., Gorman N.T., Ackerman N., Mays M.E., Parker R. Chemotherapy of synovial cell sarcoma in a dog // J. Am Vet Med. Assoc. – 1986. – V. 188(5). – P. 530-532.

Summary

**METAKOL ANTINEOPLASTIC ACTION IN VIVO AT AN
EXPERIMENTAL CANCEROGENESIS IN RATS**

In the study on laboratory animals antineoplastic action of metakol drug has been investigated. As the results show metakol can be used as a drug for various neoplasm growth inhibition.

Key words: *rats, neoplasm, cancerogenesis, metakol, lymphosarcoma Plisa, antineoplastic activity, neoplasm growth inhibition.*

Рецензент – д.вет.н., професор Хомин Н.М.