

ВИКОРИСТАННЯ «АДРЕНАЛІНОВОЇ ПРОБИ» В ОЦІНЦІ ІНДИВІДУАЛЬНОЇ ЧУТЛИВОСТІ ТВАРИН ДО ДІЇ ПРОТИПУХЛИННИХ ХІМІОПРЕПАРАТІВ

А. С. Хілько, Ю. М. Мадієвський

Кафедра анатомії та фізіології Харківського педагогічного інституту

Цитотоксичні препарати, які пригнічують ріст пухлини, дістали широке застосування в онкологічній практиці. Побічним ефектом їх дії є гальмування проліферативної активності нормальних тканин, зокрема кісткового мозку, чим пояснюється одне з основних ускладнень хіміотерапії — прогресуюча лейкопенія. За здатністю акумулювати, наприклад, тіофосфамід (Т) кістковий мозок займає друге місце після пухлинної тканини [25]. Проте, вираженість лейкопенії може залежати й від чутливості кровотворної системи даного організму до цього агента. З метою можливого прогнозування індивідуальної переносимості хіміопрепаратів (і підбору дози) ми спробували встановити зв'язок між реактивністю системи кровотворення і станом периферичної крові (кількість лейкоцитів) при наступному введенні цитотоксичного препарату (Т).

Для визначення реактивності ми використовували так звану «адреналінову пробу» [1, 2, 18, 19], раніше застосовувану в експерименті й клініці [6, 9, 15—17, 23, 28].

Методика досліджень

Досліди проведені на 89 білих щурах обох статей, вагою 180—250 г, яких утримували в умовах віварія на звичайному харчовому раціоні.

У всіх тварин, натще, визначали кількість лейкоцитів периферичної крові, яку брали з хвостової вени (0,05—0,1 мл). Помилка у визначенні кількості лейкоцитів становила $10,0 \pm 0,9\%$ ($\sigma = 2,8\%$), що відповідає загальноприйнятій точності визначення [27].

Адреналін вводили одноразово, внутрім'язово з розрахунку 0,25 мг/кг. Через 2 год після ін'єкції повторно визначали кількість лейкоцитів. Величину «адреналінової реакції» для кожної тварини виражали у процентах (кількість лейкоцитів до введення адреналіну приймали за 100%). Методика детально описана нами раніше [22].

Піддослідних тварин поділили на дві групи. Тваринам першої групи (59 щурів) Т вводили внутрім'язово, з розрахунку 3 мг/кг щодня протягом п'яти днів, тобто сумарна доза становила 15 мг/кг. Така доза вважається максимально переносимою і найбільш ефективною лікувальною [21]. З п'ятої до 16-ї доби з моменту першої ін'єкції препарату брали кров і підраховували кількість лейкоцитів.

Частині тварин Т вводили з розрахунку 3 мг/кг протягом трьох днів і стежили за динамікою лейкоцитів до дев'ятої доби.

Тваринам другої групи (10 щурів) Т вводили одноразово, з розрахунку 20 мг/кг. Таку дозу вважають токсичною [8, 21, 30]. Дослідження крові проводились на першу — третю добу після ін'єкції. Кількість лейкоцитів виражали в процентах до вихідного рівня.

Водночас брали до уваги загальний стан тварин, динаміку ваги тіла тощо. Тварини, що загинули, піддавались аутопсії. Якщо при розтині виявляли зміни, не пов'язані з введенням препарату, такі екземпляри з дослідних груп виключали.

15 щурів служили контролем, їм Т не вводили, а кров брали у ті ж строки, що й у піддослідних тварин.

Залежність між величиною «адреналінової проби» до введення Т і лейкоцитарною реакцією на дію препарату встановлювали з допомогою кореляційного аналізу, з урахуванням індивідуальних особливостей тварин [3, 20]. Наявність залежності вважали достовірною при $\alpha \geq 0,950$. Експерименти виконані на базі патогістологічної лабораторії Харківського інституту медичної радіології.

Результати досліджень

Кількість лейкоцитів у периферичній крові інтактних щурів становила $12\,300 \pm 500$ в 1 мм^3 ($n=32$), що відповідає нашим раніше проведеним дослідженням [22] і літературним даним [14]. У тварин контрольної групи протягом усього спостереження вміст лейкоцитів коливався в невеликих межах ($18,1 \pm 1,2\%$ від вихідного рівня).

Після введення адреналіну у інтактних тварин будь-яких зовнішніх проявів реакції відзначити не вдалось.

Загальний стан тварин, яким вводили сумарну дозу Т — 9 мг/кг (на третю добу після початку введення), істотно не відрізнявся від контрольних. Підрахування загальної кількості лейкоцитів у периферичній крові проводилося з третьої до дев'ятої доби.

У тварин, яким була введена сумарна доза Т — 15 мг/кг , на п'яту — дев'яту добу відзначалась адинамія, зниження апетиту, наїжаченість шерсті, понос, значне зниження ваги тіла. На аутопсії (частина тварин забита на дев'яту і 15-у добу) виявлене різке зменшення лімфовузлів, селезінки, блідність кісткового мозку. Поступово до 18—20-ї доби стан тварин поліпшувався. Летальних випадків у тварин не відзначено.

Всі тварини другої групи (яким вводили 20 мг/кг Т) загинули на третю-четверту добу після затравки. На розтині відзначається дуже

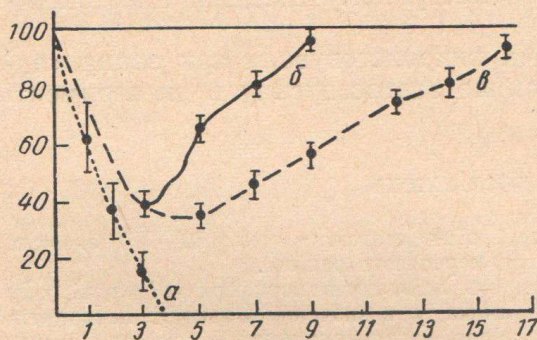


Рис. 1. Зміни кількості лейкоцитів периферичної крові щурів після введення Т. По вертикалі — кількість лейкоцитів в 1 мм^3 крові, виражена в процентах до вихідного рівня, прийнятого за 100%. По горизонталі — час після початку затравки (доби). Вертикальні значки — середні величини та їх помилки для кожної серії. а — введення 20 мг/кг препарату одноразово; б — 3 мг/кг щодня протягом п'яти днів; в — 3 мг/кг щодня протягом п'яти днів.

значне здуття шлунково-кишкового тракту. Стінка шлунка витончена, сам шлунок досягає дуже великих розмірів. Спостерігаються точкові крововиливи в тканину легень, значне зменшення об'єму селезінки, майже повне зникнення лімфовузлів і тимуса. Кістковий мозок перетворюється на кров'янисту рідину.

Зміни загальної кількості лейкоцитів периферичної крові у піддослідних тварин наведені на рис. 1 (вихідний рівень для кожної тварини прийнято за 100%). Після введення Т настає виражена лейкопенія, ступінь якої тим більший, чим більша сумарна доза препарату. При дозі 20 мг/кг кількість лейкоцитів зменшується до самої загибелі тварин. При сумарній дозі 15 мг/кг максимум зниження відзначається на п'яту добу, а потім спостерігається поступове відновлення, яке закінчується до 16-ї доби. При сумарній дозі 9 мг/кг відновлення закінчується значно раніше (на дев'яту добу). Отже, введення

тваринам Т в дозах, які відповідають застосовуваним у клініці, супроводжується зменшенням кількості лейкоцитів периферичної крові, яка залежить від сумарної дози препарату і строку, що минув з початку курсу, причому цими ж факторами визначається і швидкість відновлення.

Індивідуальні зміни кількості лейкоцитів у відповідь на введення адреналіну і після затравки Т показані на рис. 2, а значення коефіцієнтів кореляції між цими величинами наведені в таблиці. Як видно

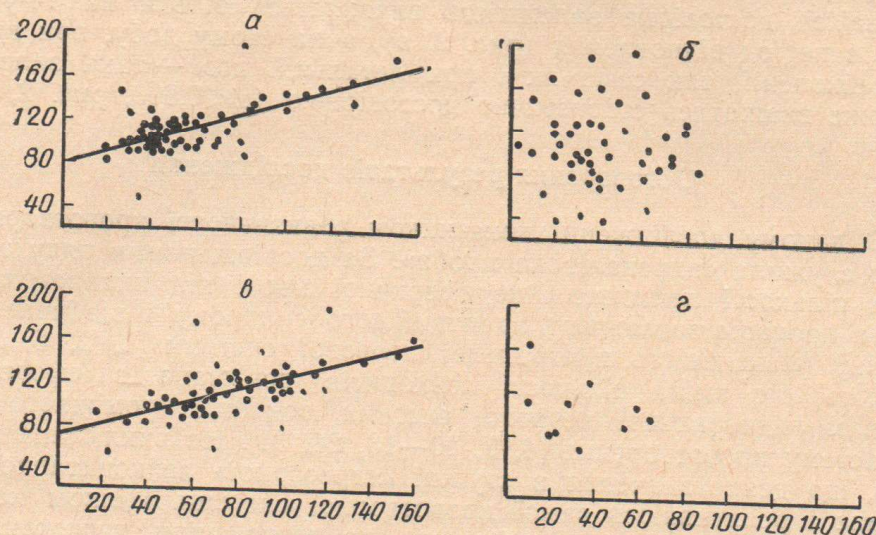


Рис. 2. Залежність між кількістю лейкоцитів периферичної крові щурів після введення адреналіну та після затравки Т (в процентах до вихідного рівня).

По вертикалі — вміст лейкоцитів через дві години після ін'єкції адреналіну. По горизонталі — вміст лейкоцитів у різні строки після початку курсу Т: а — сумарна доза 9 мг/кг (по 3 мг щодня) — третя доба після початку введення; б — сумарна доза 15 мг/кг (по 3 мг щодня) — сьома доба після початку введення; в — сумарна доза 15 мг/кг (по 3 мг щодня) — 14-а доба після початку введення; г — сумарна доза 20 мг/кг (одноразово) — друга доба після затравки.

з цих даних, існує статистично достовірна кореляція ($\alpha > 0,990$) між зміною кількості лейкоцитів на введення адреналіну і Т. Позитивні значення коефіцієнтів кореляції вказують на наявність прямої залежності між досліджуваними показниками, тобто, чим більший вміст лейкоцитів у периферичній крові через дві години після ін'єкції адреналіну, тим більша їх кількість після затравки Т. Слід особливо підкреслити, що така залежність зберігається тільки в тому випадку, коли

Значення коефіцієнтів кореляції (r) залежності між величиною «адреналінової проби» і кількістю лейкоцитів периферичної крові після введення тіотефа

Сумарна доза препарату (мг/кг)	Строк дослідження (добі після початку затравки)	n	Величини r , визначені в експерименті	Табличні значення r для $\alpha > 0,950^*$	Імовірність кореляції в експерименті (α)
9	3	64	$0,3754 \pm 0,1182$	0,2500	$0,999 > \alpha > 0,990$
15	7	59	$0,1684 \pm 0,1320$	0,2500	$0,800 > \alpha > 0,700$
	14	45	$0,4994 \pm 0,1321$	0,2875	$1,000 > \alpha > 0,999$
20	1	10	$0,0767 \pm 0,3320$	0,6319	$0,100 > \alpha > 0,000$
	2	10	$-0,0453 \pm 0,3531$	0,6319	$0,100 > \alpha > 0,000$

* Наведені величини взяті з таблиць Янко [32]. Кореляцію вважали імовірною при $\alpha \geq 0,950$.

доза виявляється переносною і тварини виживають. При введенні летальної дози (20 мг/кг) ніякої кореляції між «адреналіновою пробою» і вмістом лейкоцитів немає (див. рис. 2, г), і значення коефіцієнтів кореляції абсолютно недостовірні у всі строки дослідження після затравки (див. таблицю).

При сумарній дозі препарату 9 мг/кг наявність кореляції повністю достовірна ($\alpha > 0,990$) навіть при максимальному зниженні загальної кількості лейкоцитів (рис. 2, а), але при більшій дозі (15 мг/кг) достовірна залежність виявляється тільки на 14-у добу, тобто в період відновлення (рис. 2, в), а на сьому добу, при вираженій лейкопенії, так само як і при летальній дозі — така залежність не може вважатись статистично достовірною ($\alpha < 0,800$, рис. 2, б).

Обговорення результатів дослідження

В даному дослідженні показником реактивності кровотворної системи служила «адреналінова проба». За дослідженнями ряду авторів, зміна кількості лейкоцитів периферичної крові під впливом адреналіну є проявом загального адаптаційного синдрому і відбиває специфічну реактивність центральної нервової системи [1, 2, 5, 26, 29]. Гадають, що зміна кількості лейкоцитів пов'язана з еферентними впливами центральної нервової системи, зокрема проміжного мозку, на систему кровотворення [4, 7, 10—13, 24, 31]. Не виключена можливість, що деяке значення в ступені «стресорної» лейкоцитарної реакції має і реактивність самої кровотворної системи. Цілком можливо, що від рівня реактивності залежить, до деякої міри, вираженість репаративних процесів в результаті альтації.

У раніше проведеному дослідженні [22] нам вдалося показати, що між реакцією кровотворної системи на введення адреналіну і вмістом лейкоцитів після опромінення тварин рентгенівськими променями існує пряма залежність. Така залежність виявляється особливо чіткою або при дії малих доз радіації, або в періоді відновлення при дії сублетальних доз. Водночас при летальних дозах такої залежності не встановлено.

Аналогічні закономірності відзначені і при дії радіоміметичних препаратів, зокрема Т. Переносні дози (9—15 мг/кг), які вводились дробно, викликають лейкопенію, але в період відновлення нормалізація кількості лейкоцитів настає скоріше у тих тварин, які реагували вираженим лейкоцитозом на введення адреналіну.

Летальні дози Т викликають різке зменшення кількості лейкоцитів у всіх тварин, незалежно від їх реакції на адреналін.

Якщо припустити, що зміна кількості лейкоцитів на введення адреналіну («адреналінова проба») відображає реактивність системи кровотворення, то можна відзначити наявність зв'язку між реактивністю кровотворної системи і чутливістю тварин до дії радіоміметиків.

Проведені спостереження дозволяють зробити висновок, що за величиною «адреналінової проби» можна, з відомою часткою імовірності, передбачити ступінь розвитку лейкопенії у тварин, яких піддають впливу переносних доз радіоміметичних препаратів. Для з'ясування механізму описаних змін потрібні дальші дослідження.

Висновки

1. Введення щурам Т в сумарних дозах 9 і 15 мг/кг викликає різке зменшення кількості лейкоцитів периферичної крові з нормалізацією відповідно до дев'ятої і 16-ї доби після початку затравки. При

дозі 20 мг/кг кількість лейкоцитів прогресивно зменшується аж до загибелі тварин.

2. Між зміною кількості лейкоцитів периферичної крові щурів, яка викликається ін'єкцією адреналіну до затравки та їх вмістом після введення тіотефа в сумарній дозі 9 і 15 мг/кг існує статистично достовірна пряма залежність, особливо чітко виражена в періоді відновлення.

3. При введенні летальних доз Т (20 мг/кг) зв'язок між вмістом лейкоцитів у крові і величиною «адреналінової реакції» встановити не вдалося.

Література

1. Бейер В. А.—Сб. трудов, посвящ. 60-летию акад. Н. Н. Аничкова, Л., 1946, 279.
2. Бейер В. А.—Клин. мед., 1950, 9, 45.
3. Бейли Н.—В кн.: Статистич. методи в биол., М., 1962.
4. Беленький Г. С.—Клин. мед., 1950, 9, 52.
5. Березин А. А.—Тр. III Павловской конфер., Томск, 1953, 88.
6. Богатов Л. В.—Радиобиология, 1961, 1, 5, 746.
7. Вогралик В. Г.—Клин. мед., 1945, 4-5, 36.
8. Гарибджанян Б. Т.—Вопросы онкологии, 1964, 10, 12, 49.
9. Гетманенко Е. С., Толмачева И. С.—Тр. III Павловской конфер., Томск, 1953, 29.
10. Гольдберг Д. И.—В кн.: Очерки гематологии, Томск, 1952.
11. Гольдберг Д. И.—В кн.: Механизмы острой лейкоцитарной реакции, Томск, 1952.
12. Губергриц О. Я.—Радянська медицина, 1940, 9, 27.
13. Губергриц А. Я.—В кн.: Вегетативная регуляция белой крови, К., 1941.
14. Западнюк И. П., Западнюк В. И., Захария Е. А.—В кн.: Лабораторные животные, их разведение, содержание и использование в эксперименте, К., 1962.
15. Ильин И. И.—Дисс., Ленинград, 1951.
16. Ильин И. И.—Журн. невропатол. и психиатр. им. С. С. Корсакова, 1953, 53, 6, 667.
17. Климовская Л. Д.—В кн.: Полоний, М., 1964, 117.
18. Кочарова Е. А.—Бюлл. exper. биол. и мед., 1938, 6, 6, 667.
19. Кочарова Е. А.—Архив анат., гистол. и эмбриол., 1940, 23, 3, серия В, 295.
20. Кудрин А. П., Пономаренко Г. Т.—В кн.: Применение математики в exper. и клин. мед., «Медицина», 1967.
21. Ларионов Л. Ф.—В кн.: Химиотерапия злокачественных опухолей, М., 1962.
22. Мадієвський Ю. М., Хілько А. С.—Фізіол. журн. АН УРСР, 1970, XVI, 1, 96.
23. Минц Я. И., Фукс Е. М.—Советская психоневрол., 1938, 3, 95.
24. Николаев Н. М.—Клин. мед., 1954, 32, 2, 112.
25. Перевощикова К. А., Белоусов А. Н.—Вопросы мед. хим., 1966, 12, 1, 51.
26. Прегер О. М.—Тр. III Павловской конфер., Томск, 1953.
27. Предтеченский В. Е., Боровская В. М., Марголина Л. Т.—Лабор. методы исслед., Медгиз, 1950.
28. Ремизова И. В.—Радиобиология, 1967, 7, 3, 417.
29. Сумбаев В. С.—Материалы II пленума Сибир. филиала об-ва патофизиологов, Чита, 1958.
30. Сухин Г. М.—Бюлл. exper. биол. и мед., 1965, 59, 1, 86.
31. Черниговский В. Н., Ярошевский А. Я.—В кн.: Вопросы нервной регуляции системы крови, Медгиз, 1953.
32. Янко Я.—Математ.-статист. таблицы, Гостехиздат, 1961.

Надійшла до редакції
15.XII 1968 р.

USE OF "ADRENALINE TEST" FOR ESTIMATION
OF THE INDIVIDUAL SENSITIVENESS OF ANIMALS
TO ANTI-NEOPLASM REMEDIES

A. S. Khilko, Yu. M. Madievsky

Department of Anatomy and Physiology, the Kharkov Pedagogical Institute

Summary

A dependence was studied between the value of "adrenaline test" (AT) before injection of thio-tepa (T) and leucocyte's content (L) in rat peripheral blood after injection of T in doses of 3 mg/kg every day, in total doses of 9 and 15 mg/kg and in single one of 20 mg/kg.

The number L two hours after injection of 0.25 mg adrenaline per kg of body-weight was a AT index.

Administration of T causes the drop in the number L which is normalized at doses 9 and 15 mg/kg, respectively by the 9th and 16th day. With a dose of 20 mg/kg the number L lowers right up to the animals' death.

There is a real correlation between the value of AT and number L after administration of T (9—15 mg/kg). The higher AT the lower the number L and the sooner comes recovery of the leucocyte's content. With a dose of 20 mg/kg the mentioned correlation was not found.

СІ

Лабора

[5] та
та г
шийн
ронів
нізму
вих і

провод
гусячо
ми вв
чачої
довиш
вання
ні пре
імпрег
за Бо

ла в
від н
вузла
стері
і про
нерво
дотел

план
цент
геніз
фери
на к
розпа
Імпр
тин.

побл
ютьс

5 — Н