

УДК 615.277.3+544(035)

DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.2612925>

ВИЗНАЧАННЯ LD₅₀ ЦИСПЛАТИНУ ДЛЯ ЩУРІВ ПРИ ВНУТРІШНЬООЧЕРЕВИННОМУ ВВЕДЕННІ

Пихтєєва О.Д., Третьяков О.М.

Український НДІ медицини транспорту, Одеса

ОПРЕДЕЛЕНИЕ LD₅₀ ЦИСПЛАТИНА ДЛЯ КРЫС ПРИ ВНУТРИБРЮШИННОМ ВВЕДЕНИИ

Пыхтеева Е.Д., Третьяков А.М.

Украинский НИИ медицины транспорта, Одесса

CYSTPLASTINE LD₅₀ DETERMINATION IN RATS WITH INTRAPERITONEAL ADMINISTRATION

Rykhteieiva E.D., Tretyakov A.M.

Ukrainian Research Institute of Transport Medicine

Summary/Резюме

Cisplatin LD50 to rats by intraperitoneal injection was experimentally determined by probit analysis. Cisplatin Ebeve (concentrate) was used with a concentration of 1 mg/ml. Cisplatin was administered dissolved in 0,9% NaCl. Animals were observed for 14 days after administration. The following indicators were established: LD₁₆ = 4.65 mg/kg, LD₅₀ = 6.27 mg/kg, LD₈₄ = 7.89 mg/kg, LD₁₀₀ = 8.71 mg/kg.

Key words: LD50, cisplatin, rats, intraperitoneal injection.

Проведено експериментальне визначення LD₅₀ цисплатину для щурів при внутрішньоочеревинному введенні методом пробіт-аналізу. Використаний Цисплатин «Ебе́ве» (концентрат) з концентрацією 1 мг/мл. Вводили розчин цисплатину в 0,9% NaCl. За тваринами спостерігали 14 днів після введення. Встановлено наступні показники: LD₁₆ = 4,65 мг/кг, LD₅₀ = 6,27 мг/кг, LD₈₄ = 7,89 мг/кг, LD₁₀₀ = 8,71 мг/кг.

Ключові слова: LD₅₀, цисплатин, щури, внутрішньоочеревинне введення

Проведено экспериментальное определение LD₅₀ цисплатина для крыс при внутрибрюшинном введении методом пробит-анализа. Использован Цисплатин «Эбе́ве» (концентрат) с концентрацией 1 мг/мл. Вводили раствор цисплатина в 0,9% NaCl. За животными наблюдали 14 дней после введения. Установлены следующие показатели LD₁₆ = 4,65 мг/кг, LD₅₀ = 6,27 мг/кг, LD₈₄ = 7,89 мг/кг, LD₁₀₀ = 8,71 мг/кг.

Ключевые слова: LD₅₀, цисплатин, крысы, внутрибрюшинное введение

Актуальність

Найбільш дешевим і в багатьох випадках досить ефективним протипух-

линним препаратом багато років залишається цисплатин (ЦП) та інші похідні платини, тому вони широко використовуються в світі при традиційній хіміотерапії та гіпертермічній хіміоперфузії

(НІРЕС). Загальнотоксичні ефекти препаратів платини є логічним продовженням їх протипухлинної активності і добре вивчені при внутрішньовенному застосуванні. НІРЕС традиційно вважається менш небезпечним з точки зору побічних ефектів, проте ряд факторів (підвищена температура, перемішування при хіміоперфузії, пошкодження поверхневих епітеліальних клітин внутрішніх органів) може сприяти дещо іншим механізмам транспорту, всмоктування і міжорганного розподілу хіміотерапевтичного препарату.

Раніше в клінічних спостереженнях [1] нами були показані прояви системної токсичності, нефротоксичні та гепатотоксичні ефекти дії ЦП при НІРЕС, а також відмінності мікроелементного обміну до і після операції. На прояви системної токсичності ЦП впливає загальний стан, вік, обсяг циторедуктивної операції, наявність інтеркурентних неонкологічних захворювань, що знижує можливість узагальнення отриманих в клініці результатів. Невелика кількість прооперованих пацієнтів, яким було виконано НІРЕС з цисплатином, вимагає для перевірки і уточнення спостережуваних ефектів проведення модельного експерименту на лабораторних тваринах.

Не дивлячись на давнє застосування ЦП, дані щодо LD_{50} при в/о введенні тваринам нечисленні та суперечливі. Так [2] А.І Нерсесян для мишей при в/о введенні наводять LD_{50} для ЦП 11,0 мг/кг, в інструкції до препарату LD_{50} у щурів — 44 мг/м², у мишей 39 мг/м², що вимагає перерахунку площі поверхні на вагу тварини. Крім того не вказаний спосіб введення. MSDS (MATERIAL SAFETY DATA SHEET) — це документ, який розробляють виробники хімічних речовин. В цьому документі повинні бути вказані основні характеристики речовини (в т.ч. токсикологічні). MSDS на ЦП [3] містить LD_{50} для щурів лише

при пероральному надходженні — 25,8 мг/кг. MSDS Cayman Chemical Company на ЦП [4] наводить LD_{50} при інтраперитонеальному введенні для щурів як 6,4 мг/кг (для мишей 6,6 мг/кг). MSDS на ЦП [5] фірми Pfizer Ltd наводить 8,0 мг/кг як LD_{50} для щурів при в/в введенні. Зазвичай, LD_{50} при в/в введенні суттєво нижче, ніж при в/о. Для мишей при одноразовому в/в введенні за даними Гуськової Т.А. LD_{50} для цисплатину була 12,5 мг/кг [6]. Машевська О.В. і Пентюк [7] дозу 7 мг/кг при в/о введенні для щурів оцінюють як сублетальну. Крім наведених вище даних, з яких видно, що неможливо знайти достовірні значення LD_{50} при в/о введенні для щурів, зрозуміло, що на показник LD_{50} впливають умови лабораторного утримання та розведення тварин, тому при плануванні експерименту необхідно було встановити LD_{50} саме для популяції тварин, яка залучається в експеримент.

Матеріали та методи

З урахуванням вимог біоетики, обсягу необхідних експериментів, кількості матеріалу для проведення біохімічних, морфологічних досліджень, визначення мікроелементного обміну та необхідності проведення різнопланових маніпуляцій в якості піддослідних тварин обрано статевозрілих лабораторних щурів лінії Вістар з масою 180-220 г. Тварин отримували з віварію Одеського національного медичного університету, який обладнаний відповідно існуючих санітарно-гігієнічних норм. В період адаптації щурів утримували в умовах віварію з вільним доступом до їжі та води, що попередньо досліджувались на вміст ВМ. В жодному випадку вміст Zn, Cu, Hg, Cd, Pb не виходив за межі допустимих значень у харчових продуктах згідно МБТ [8] та ДСанПіН 2.2.4-171-10 "Гігієнічні вимоги до води питної, призначеної для споживання людиною"[9]). Перед початком експерименту проводили визначення темпе-

ратури та маси тіла тварин, а також загальний аналіз крові. За добу до проведення дослідження тварин не годували, але доступ до води зберігався. Використаний Цисплатин “Ебеве” (ЦП) (концентрат) з концентрацією 1 мг/мл. Внутрішньоочеревинно водили розчин розрахованої концентрації у стерильному розчині 0,9% NaCl.

Результати та їх обговорення

Вимір летальної дози для окремої особини практично неможливий, так як загибель від дози, навіть більшої, ніж смертельна, настає не відразу, а через кілька днів або навіть тижнів. Якщо ж доза недостатня, щоб викликати загибель піддослідної особини, це з'ясується також лише через деякий час. За цей період в організмі відбуваються відновні процеси. Відновлення, проте, не буває повним, і тому повторювати дослід на одних і тих об'єктах з деякими інтервалами і кожен раз збільшуючи дозу неможливо.

Точно встановити дозу, що викликає 100 % летальність, при порівняльній оцінці різних чинників не тільки не просто, але і не виправдано у зв'язку з витратою експериментальних об'єктів і діючих речовин. Практично цілком достатньо встановити дозу, при якій гине 50 % особин, яку і приймають за усереднену характеристику летальної дії шкідливого чинника (LD_{50}). Для визначення LD_{50} найчастіше використовується спеціальний статистичний метод — пробіт-аналіз. При цьому для визначення LD_{50} на осі абсцис відкладають логарифми доз досліджуваного препарату, а по осі ординат — відсоток загибелі піддослідних особин, трансформований в умовні імовірнісні величини, так звані пробіти (від англійсько-

го probability unit — імовірнісна одиниця).

Зараз для розрахунку LD_{50} методом пробіт аналізу розроблені численні комп'ютерні програми, в які вносяться наступні дані: доза при певному способі введення (мг/кг), кількість піддослідних тварин, яким введено цю дозу та кількість тварин, які загинули протягом 14 діб після введення [10]. Використовуються декілька доз, з розрахунку виключаються дози, при яких не загинула жодна тварина або загинули всі.

Експериментальні дані для розрахунку LD_{50} цисплатину для щурів при внутрішньоочеревинному введенні наведені в таблиці 1. Цисплатин вводили одноразово, внутрішньоочеревинно в асептичних умовах в розчині 0,9% хлориду натрію в стерильній дистильованій воді. За тваринами спостерігали 14 діб.

Таблиця 1

Експериментальні дані для розрахунку LD_{50} цисплатину для щурів при внутрішньоочеревинному введенні*

Доза ЦП, мг/кг	Кількість тварин	Кількість загиблих
4	5	0
5	5	1
6	5	2
7	5	4
8	5	4
10	5	5

Примітка: час спостережень 14 діб після введення

Для розрахунку показників LD використана програма StatPlus.

Установлено, що при одноразовому внутрішньоочеревинному введенні ЦП показники LD, розраховані методом пробіт-аналізу, для нашої популяції щурів складають

$$LD_{16} = 4,65$$

$$LD_{50} = 6,27$$

$$LD_{84} = 7,89$$

$$LD_{100} = 8,71$$

Висновок

Експериментально встановлена LD_{50} для щурів при внутрішньоочере-

винному введені склала 6,27 мг/кг. Ос-
кільки при в/о введенні дози 4 мг/кг
загибелі тварин протягом 14 днів не
відбувалось, а також з урахуванням
видової чутливості при екстраполяції
даних щодо використаних доз в клініці
(приблизно 1 мг/кг (50-100 мг/м²)), для
моделювання HIPEC з цисплатином
доцільно використовувати дозу 4 мг/кг.

Література

1. Пыхтеева Е.Д., Максимовский В.Е.,
Пыхтеева Е.Г., Большой Д.В. Токсикоки-
нетика и токсикодинамика платины при
проведении процедуры hipec с исполь-
зованием цисплатина при канцеромато-
зе брюшины/ Актуальные проблемы
транспортной медицины – 2016 - №46
(4) - С. 113-120.
2. А.К.Нерсесян. Индукция микроядер
новым противоопухолевым препаратом
платиновой группы циклоплатаном в
костном мозге мышей./ Химико-фар-
мацевтический журнал -2002. -Т.36 №4
С. 9-10
3. [https://www.sigmaaldrich.com/MSDS/
MSDS/DisplayMSDSPage.do?
country=UA&language=en&product
Number=479306&brand=ALDRICH&
PageToGoToURL=https%3A%2F%
2Fwww.sigmaaldrich.com%2Fcatalog%
2Fsearch%3Fterm%3D15663-27-
1%26interface%3DCAS%2520No.%26N%
3D0%26mode%3Dpartialmax%
26lang%3Den%26region%3DUA%
26focus%3Dproduct](https://www.sigmaaldrich.com/MSDS/MSDS/DisplayMSDSPage.do?country=UA&language=en&productNumber=479306&brand=ALDRICH&PageToGoToURL=https%3A%2F%2Fwww.sigmaaldrich.com%2Fcatalog%2Fsearch%3Fterm%3D15663-27-1%26interface%3DCAS%2520No.%26N%3D0%26mode%3Dpartialmax%26lang%3Den%26region%3DUA%26focus%3Dproduct)
4. [https://www.caymanchem.com/msdss/
13119m.pdf](https://www.caymanchem.com/msdss/13119m.pdf)
5. [https://www.pfizer.com/sites/default/
files/products/material_safety_data/
PZ00042.pdf](https://www.pfizer.com/sites/default/files/products/material_safety_data/PZ00042.pdf)
6. Гуськова Т.А. Токсикология лекарственных
средств, М.: Издательский дом
“Русский врач”. -2003. - 154 с. 2003
7. Машевська О. В., Щентюк О. О. Оцінка
протективної дії десферіоксаміну, три-
метазидину, диметилтіосечовини та
геністеїну при ураженні нирок щурів
цисплатином //Актуальні проблеми су-
часної медицини: Вісник української
медичної стоматологічної академії. –
2009. – Т. 9. – №. 4-3 (28).
8. Збірник важливих офіційних матеріалів

з санітарних і протиепідемічних питань.
Видання офіційне. Під загальною ре-
дакцією Головного державного санітар-
ного лікаря України В.Ф.Марієвського.
У шести томах. Том 1. Частина 2. Ме-
дико-біологіческие требования и са-
нитарные нормы качества продо-
вольственного сырья и пищевых про-
дуктов. Київ, 1995. 246 с.

9. ДсанПіН2.2.4-171-10“Гігієнічні вимоги
доводипитної, призначеної для спожи-
вання людиною”.
10. Бабиц П. Н. Применение пробит-анали-
за в токсикологии и фармакологии с
использованием программы
MICROSOFT EXCEL для оценки фарма-
кологической активности при альтерна-
тивной форме учета реакций. Бабиц
ПН, Чубенко АВ, Лапач СН. – 2004.

References

1. Pyhtieieva Ye.D., Maksimovsky V.Ye.,
Pyhtieieva E.G., Bolshoy D.V.
Toxicokinetics and toxicodynamics of
platinum during the procedure hipec with
cisplatin in peritoneal carcinomatosis
treatment/ Actual problems of transport
medicine - 2016 - No. 46 (4) - P. 113-120.
2. AK Nerssesyan. The induction of a micro
nucleus with a new antitumor preparation
of the platinum group by cycloplatan in the
bone marrow of mice. / Chemistry and
Pharmaceutical Journal -2002. -Т.36 No.
4 P. 9-10
3. [https://www.sigmaaldrich.com/MSDS/
MSDS/DisplayMSDSPage.do? country =
UA & language = en & product number =
479306 & brand = ALDRICH &
PageToGoToURL = https% 3A% 2F%
2Fwww.sigmaaldrich.com% 2Fcatalog%
2Fsearch% 3Fterm% 3D15663-27-1%
26interface% 3DCAS% 2520No.% 26N%
3D0% 26mode% 3Dpartialmax %
26lang% 3Den% 26region% 3DUA %
26focus% 3Dproduct](https://www.sigmaaldrich.com/MSDS/MSDS/DisplayMSDSPage.do?country=UA&language=en&productNumber=479306&brand=ALDRICH&PageToGoToURL=https%3A%2F%2Fwww.sigmaaldrich.com%2Fcatalog%2Fsearch%3Fterm%3D15663-27-1%26interface%3DCAS%2520No.%26N%3D0%26mode%3Dpartialmax%26lang%3Den%26region%3DUA%26focus%3Dproduct)
4. [https://www.caymanchem.com/msdss/
13119m.pdf](https://www.caymanchem.com/msdss/13119m.pdf)
5. [https://www.pfizer.com/sites/default/
files/products/material_safety_data/
PZ00042.pdf](https://www.pfizer.com/sites/default/files/products/material_safety_data/PZ00042.pdf)
6. Guskova T.A. Toxicology of Drugs,
Moscow: Russian Medical Doctor's
Publishing House. -2003 - 154 s. 2003
7. Mashevskaya O.V., Shchentyuk O. O.

- Estimation of protective effect of desferrioxamine, trimetazidine, dimethylthiourea and genistein in damages of kidney of rats with cisplatin / Actual problems of modern medicine: Bulletin of the Ukrainian Medical Stomatological Academy. - 2009. - Vol. 9. - No. 4-3 (28).
8. Collection of important official materials on sanitary and anti-epidemic issues. Edition is official. Under the general editorship of the Chief State Sanitary Doctor of Ukraine V.F.Maryevsky. In six volumes. Volume 1. Part 2. Medical and biological requirements and sanitary norms of quality of food raw materials and food products. Kiev, 1995. 246 p.
9. DsanPiN2.2.4-171-10 "Hygienic requirements of a prepotent, intended for human consumption".
10. Babich P. N. The use of probe analysis in toxicology and pharmacology using the MICROSOFT EXCEL program to evaluate pharmacological activity in an alternative form of reaction accounting. Babich PN, Chubenko AV, Lapach CH. - 2004
- Впервые поступила в редакцию 25.12.2018 г.
Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования*

УДК 57.084.1: 599.323.45+[547.426.23+612.111.19]: 611.36

DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.2612911>

ОСОБЛИВОСТІ НАКОПИЧЕННЯ ТРИГЛІЦЕРИДІВ І ХОЛЕСТЕРИНУ В ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ ПРИ АЛІМЕНТАРНОМУ ЖИРОВОМУ НАВАНТАЖЕННІ

Макаренко¹ О. А., Левицький² А. П., Севостьянова² Т. О., Мудрик² Л. М.

¹Одеський національний університет імені І.І. Мечникова, Одеса, Україна

²Державна установа «Інститут стоматології та щелепно-лицевої хірургії НАМН України», Одеса, Україна, flavan.ua@gmail.com

ОСОБЕННОСТИ НАКОПЛЕНИЯ ТРИГЛИЦЕРИДОВ И ХОЛЕСТЕРИНА В ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ АЛИМЕНТАРНОЙ ЖИРОВОЙ НАГРУЗКЕ

Макаренко О. А.¹, Левицкий А. П.², Севостьянова Т. А.², Мудрик Л. М.²

¹Одесский национальный университет имени И.И. Мечникова, Одесса

²ГУ «Институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии НАМН», Одесса

FEATURES OF ACCUMULATION OF TRIGLYCERIDES AND CHOLESTEROL IN THE LIVER OF RATS AT ALIMENTARY FATTY LOAD

Makarenko O. A.¹, Levitsky A. P.², Sevostyanova T. A.², Mudrik L. M.²

¹Odessa National Mechnikov University, Odessa, Ukraine

²State Establishment "Institute of Stomatology and Maxillo-Facial Surgery National Academy of Medical Science of Ukraine", Odessa, Ukraine

Summary/Резюме

The analysis of the fatty acid composition of edible fats in the Ukrainian population indicates the presence of an imbalance of fatty acids, which negatively affects the body's condition.

Aim. Determination of some indicators of lipid metabolism and antioxidant-