

До питання про протипухлинну вакцинацію

К. П. Балицький і М. І. Гуревич

Дослідження в галузі протипухлинної вакцинації були розпочаті ще в 1903 р. Іенсеном, який встановив, що коли у тварини не вдалося прищеплення пухлини, то наступні трансплантації, як правило, дають негативний результат. Ерліх, підтвердивши спостереження Іенсена, на підставі власних експериментальних даних прийшов до висновку, що розсмоктування прищепленого вірулентного пухлинного штаму веде у більшості тварин до виникнення протипухлинної резистентності. В дослідженнях Безредка (1935, 1936, 1937) було показано, що у тварин, у яких розсмоктувались прищеплені внутрішкірно злоякісні пухлини, виявляється специфічний тривалий і стійкий протипухлинний імунітет.

В наступні два-три роки деякі автори не підтвердили спостережень Безредка (Вільнер і Закржевський; Флакс і Грінкраут; Нозу, Ейзен, Лангер). Однак дослідження інших авторів підтверджують спостереження Безредка (Фішер-Вазельс; Брікер і Тимофеева, 1939; Нафтольєв, 1940; Кричевський і Синельников, 1940, 1942; Ковтунович, 1948; Грагєрова, 1950; Свет-Молдавський, 1955; Захаров, 1958, та ін.). Отже, як бачимо, більшість авторів відзначила протипухлинну резистентність у тварин після розсмоктування прищеплених живих і пухлинних клітин, причому, за спостереженнями Авдєєва (1955), цей імунітет має специфічний характер.

Все ж ясно, що значно принаднішою була б, очевидно, можливість вакцинації організму вбитими пухлинними клітинами, щоб унеможливити дальший розвиток прищеплених під час профілактичної вакцинації живих пухлинних клітин. Проте численні спроби вакцинації пухлинними клітинами, вбитими різними способами (Кепінов, Левін, Рондоні, Бюргер та ін.—дією високих температур; Міхаеліс—хлороформом; Каспарі—йодом; Клоус—фтористим амонієм тощо), виявились невдалими. Ряд досліджень в цьому напрямі провели Бріккер та його співробітники (1938, 1940), але всі їх спроби зберегти імуногенну здатність пухлинних клітин, ослабивши при цьому різними способами їх вірулентність (хімічними речовинами, деякими біологічними впливами, припухлинною імунною сироваткою), також були безрезультатними.

Більш сприятливі результати одержав Подільчак (1952) при шестиразовій імунізації кроликів безклітинним фільтратом карцином.

Японським дослідникам Ямада і Такано (1955) шляхом попереднього введення ліофілізованого і свіжого екстракту асцитної пухлини Ерліха мишам ліній С₅₇, В₂/6 і dd вдалося зменшити їх чутливість до наступного прищеплення цієї пухлини.

Успішні дослідження в цій галузі проведені лабораторією Зільбера (1950, 1953, 1954). Виявлення під час цих досліджень у пухлинах специфічних антигенів дозволило щільно підійти до вивчення питання про протипухлинну вакцинацію. Радзиховська (1950, 1952) показала, що в

пухлинній клітині чому білкова фракція має свої властивості, в зв'язку з властивості пухлинних клітин. Інших дослідників Байдакової і Лежєнової, одержаною гіперімунною сироваткою, пухлинної резистентності. Халецька (1957), том пухлинної тканини пухлин.

Питання імуногенності всебічному обговоренню (Хін, 1956). У доповіді були наведені експерименти про створення жовткової специфічності пухлиною раку наводиться на імуногенність вакцинації.

Серед спроб відзначити і дослідження пухлинної тканини (Бенад і Фроберг).

Наведені висновки про профілактичну не розв'язане і спроби експериментальних досліджень вакцинацію здатності. Нами і була проведена клітинами, попередньо завдання наших досліджень протипухлинної тканини, зруйнованою і зруйнованою цих досліджень.

Профільтровану і з пухлинної тканини фізіологічного розчи (Ерліха) поміщали в гуму, та опромінювали для перевірки дослідження всіх пухлинних клітин карцином в усіх дальших дослідженнях. Вивчення під мікроскопом виявило зруйнування і мишей провадилась дослідження піддослідним прищеплення провад розрахунку і з пухлин кризь одинарний шар а кроликам—внутрішнім шляхом виміру в цих двох показників.

Досліди були моєю Герена, в ч. Броуна — Пірс і

пухлинній клітині, крім вірусного антигену, є тканинний антиген, причому білкова фракція, з якою він зв'язаний, дуже нестійка і легко втрачає свої властивості при нагріванні та обробці різними хімічними речовинами, в зв'язку з чим, видимо, і не вдавалося зберегти вакцинуючі властивості пухлинних клітин в описаних вище дослідках Бріккера та інших дослідників. У дальших дослідженнях Зільбера, Радзиховської, Байдакової і Лежневої (1955, 1956) шляхом імунізації тварин вакциною, одержаною за допомогою лізису пухлинних клітин відповідною гіперімунною сироваткою, вдалося домогтися чітко вираженої протипухлинної резистентності до злоякісних пухлин у кроликів, щурів і мишей. Халецька (1957), імунізуючи мишей і кроликів безклітинним фільтратом пухлинної тканини, відзначила наявність імунітету до відповідних пухлин.

Питання імунології злоякісних утворень були піддані широкому і всебічному обговоренню на X сесії Академії медичних наук СРСР (Блохін, 1956). У доповіді Жукова-Вережникова, Майського, Гостева (1956) були наведені експериментальні дані, які дозволяють ставити питання про створення живих протипухлинних вакцин. Нові дані про антигенну специфічність пухлин в зв'язку з імунотерапією та імунопрофілактикою рака наводить Косяков (1956). Мольков повідомив про ефективність вакцинації кроликів живими пухлинними клітинами карциноми.

Серед спроб вакцинації ослабленими пухлинними клітинами слід відзначити і досліді по використанню для цієї мети замороженої пухлинної тканини (Кідд, 1950; Фроберг і Маттіс, 1955, 1956; Стон, 1956; Бенад і Фроберг, 1957; Захаров, 1958).

Наведені вище дані, інколи суперечливі, свідчать про те, що питання профілактичної протипухлинної вакцинації експериментально ще не розв'язане і що для його розробки потрібне дальше проведення експериментальних досліджень. Зокрема, досі ще не з'ясовано питання про вакцинуючу здатність пухлинних клітин, опромінених ультразвуком. Нами і була проведена спроба протипухлинної вакцинації пухлинними клітинами, попередньо обробленими ультразвуковими коливаннями. Завдання наших дослідів полягало у вивченні ефективності профілактичної протипухлинної вакцинації матеріалом, що являє собою опромінену і зруйновану за допомогою ультразвукового апарата для біологічних досліджень УЗ-1 суспензію клітин злоякісних пухлин.

Профільтровану крізь подвійну марлю наважку пухлинних клітин (з розрахунку 1 г пухлинної тканини карциноми Герена, або карциноми Броуна—Пірс на 10 мл фізіологічного розчину, або розведений фізіологічним розчином 1:13 асцитний рак Ерліха) поміщали в скляний циліндр діаметром 3 см, дно якого затягнуто тонкою гумою, та опромінювали протягом 10 хв. при інтенсивності 4,5 Вт/см². Проте проведені для перевірки досліді показали, що десятихвилинна експозиція недостатня для зруйнування всіх пухлинних клітин, оскільки прищеплення опроміненою наважкою пухлинних клітин карциноми Герена в ряді випадків викликало розвиток пухлин. Тому в усіх дальших дослідках експозиція при озвучуванні була нами подовжена до 25 хв. Вивчення під мікроскопом суспензії пухлинних тканин після такого опромінення виявило зруйнування практично всіх пухлинних клітин. Вакцинація щурів, кроликів і мишей провадилась шляхом підшкірного, внутрішнього або внутріочеревинного введення піддослідним тваринам озвученого пухлинного матеріалу. Наступне контрольне прищеплення провадили неопроміненою наважкою пухлинних клітин, виготовленою з розрахунку 1 г пухлинної тканини на 10 мл фізіологічного розчину і профільтрованої крізь одинарний шар марлі; пухлинну наважку вводили щурам підшкірно по 0,5 мл, а кроликам—внутрішньовово по 1 мл. Розміри пухлин, що розвинулись, визначали шляхом виміру в міліметрах двох діаметрів пухлини, причому середню величину з цих двох показників умовно приймали за розмір пухлини.

Досліді були проведені в перших трьох серіях на щурах з карциномою Герена, в четвертій і п'ятій серіях—на кроликах з карциномою Броуна—Пірс і в шостій і сьомій серіях—на мишах з асцитним ра-

ком Ерліха. Для контрольного прищеплення асцитного рака мишам вводили підшкірно по 0,2 мл цільної асцитичної рідини.

Всього в цій групі досліджень нами проведено сім серій дослідів на 128 щурах, 79 мишах і 27 кроликах.

У першій серії дослідів 20 піддослідних щурів були піддані чотириразовій підшкірній вакцинації з проміжками в 5—6 днів в таких дозах: 1,0 мл; 1,5 мл; 2,5 мл. Через 12 днів після останньої вакцинації всім піддослідним і 20 нормальним щурам було зроблено контрольне підшкірне щеплення.

Через 20 днів після прищеплення пухлини розвинулись у 13 піддослідних і 15 контрольних тварин, причому середній розмір пухлин у тварин піддослідної групи становив 18,0 мм, а контрольної — 22,1 мм. Через 36 днів після прищеплення з 13 піддослідних щурів, у яких розвинулись пухлини, лишилися в живих 11, а з 15 контрольних — 9. У щурів, що загинули, пухлини досягли великих розмірів і їх загибель сталася при явищах кахексії.

В другій серії дослідів чотириразовій підшкірній вакцинації були піддані 25 щурів. Вакцинація провадилась через кожні 5—6 днів у наростаючих дозах, трохи більших, ніж у першій серії: 2,0 мл; 3,0 мл; 4,5 мл; 5,0 мл. Через 11 днів після останньої вакцинації всім 25 піддослідним вакцинованим і 25 нормальним щурам було зроблено контрольне підшкірне щеплення.

Через 22 дні після прищеплення пухлини розвинулись у 6 піддослідних і 12 контрольних тварин. Середній розмір пухлин у тварин піддослідної групи становив 13,3 мм, а контрольної — 19,4 мм. Через 35 днів після щеплення з 6 піддослідних щурів з пухлинами лишилися в живих 3, а з 12 контрольних — 7. Решта тварин загинула від прогресивного розвитку карциноми.

В третій серії дослідів 20 щурів вакцинували підшкірно триразово з проміжками в один місяць між вакцинаціями в наростаючих дозах: 1,0 мл; 1,5 мл; 2,5 мл. Через місяць після останньої вакцинації було проведено контрольне підшкірне щеплення 18 піддослідним (два піддослідних щура загинули під час вакцинації) і 18 нормальним щурам.

Через 20 днів після щеплення пухлини розвинулись у 8 піддослідних і 14 контрольних щурів. Середній розмір пухлин у тварин піддослідної групи дорівнював 14,4 мм, у тварин контрольної групи — 17,0 мм. Через 37 днів після щеплення з 8 піддослідних щурів з пухлинами лишилися в живих 6, а з 14 контрольних — 8.

Отже, карцинома, прищеплена щурам після їх попередньої вакцинації, розвивалась у трохи меншій кількості тварин і інтенсивність пухлинного росту була меншою у піддослідних тварин, ніж у контрольних (табл. 1 і 2). Більш виражена протипухлинна резистентність була відзначена в другій серії дослідів при вакцинації щурів значною кількістю матеріалу, одержаного з обробленої ультразвуком наважки пухлинних клітин.

Таблиця 1

Виникнення пухлин у щурів піддослідної і контрольної груп

Дослід						Контроль					
Загальна кількість тварин			Кількість тварин з пухлинами			Загальна кількість тварин			Кількість тварин з пухлинами		
I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III
20	25	18	13	6	8	20	25	18	15	12	14

Таблиця 2

Розміри пухлин (в мм), що розвинулись у щурів піддослідної і контрольної груп через 20—22 дні після щеплення

Дослід			Контроль		
Серія I	Серія II	Серія III	Серія I	Серія II	Серія III
20	15	18	25	21	5
20	21	12	25	17	24
10	10	19	18	21	20
21	9	1	32	20	10
20	7	6	25	12	20
19	18	23	32	23	15
11		16	30	23	23
18		20	16	19	18
24			18	18	20
20			30	16	25
23			20	22	17
12			26	19	22
24			20		15
			17		
			18		19
В середньому: 18,0			22,1	19,4	17,0

В четвертій серії дослідів 5 кроликів були піддані чотириразовій підшкірній вакцинації з проміжками в 5—6 днів у наростаючих дозах: 2,0 мл; 2,5 мл; 3,0 мл; 4,0 мл. Через 12 днів після останньої вакцинації всім вакцинованим і 5 нормальним кроликам було зроблене внутрім'язове прищеплення в ділянку стегна.

Через 12 днів після щеплення у всіх піддослідних і контрольних тварин у товщі м'яза промацувались пухлини. Пухлини продовжували розвиватись і на 26-й день досягли значних розмірів, причому у тварин піддослідної групи вони були трохи меншими. Так, приблизні розміри пухлин, що розвинулись, дорівнювали у піддослідних кроликів 49, 25, 30, 26 і 29 мм, а у контрольних — 62, 28, 55, 49 і 44 мм.

Тварини контрольної групи загинули через 30, 33, 34, 36 і 47 днів після прищеплення, а піддослідні — через 36, 37, 42 і 50 днів. Під час секції у деяких загинувих тварин було виявлено метастазування у внутрішні органи.

В п'ятій серії триразово вакцинували 10 кроликів. Вакцинацію провадили внутрішньо з проміжком в 1 місяць між вакцинаціями у наростаючих дозах: 2,0 мл; 3,0 мл; 4,0 мл. Через місяць після останньої вакцинації 7 піддослідним кроликам (3 кролики загинули в період вакцинації від пневмонії) і 7 нормальним тваринам було проведено внутрім'язове прищеплення в ділянку стегна.

Через 14 днів після щеплення у всіх 7 контрольних і у 5 піддослідних тварин промацувались пухлини. Проте при дальшому спостереженні нам не вдалося відзначити будь-якої різниці в характері розвитку пухлин у тварин піддослідної і контрольної груп: тварини обох груп загинули через 35—42 дні після прищеплення, а у двох піддослідних і одного контрольного кролика пухлини розсмокталились.

Отже, протипухлинна вакцинація кроликів в умовах наших дослідів дала лише незначний ефект.

У шостій серії дослідів була проведена триразова внутріочеревинна вакцинація 20 білих мишей з проміжками в 5—6 днів у наростаючих дозах: 0,2 мл; 0,3 мл; 0,5 мл. Через 12 днів після останньої вакцинації було проведено підшкірне прищеплення всім піддослідним і 20 нормальним мишам.

Через 14 днів пухлини розвинулись у 16 піддослідних і 18 контрольних тварин. В дальшому не вдалося відзначити будь-якої різниці в розвитку пухлин у мишей піддослідної і контрольної груп.

рака мишам вво-

серій дослідів на

триразовій підшкір-

5 мл; 2,5 мл. Через

альним щурам було

у 13 під-

розмір пухлин у

альної — 22,1 мм.

урів, у яких роз-

альних — 9. У щу-

их загибель ста-

у піддані 25 шу-

дозах, трохи біль-

пів після останньої

щурам було зроб-

у 6 піддослід-

у тварин під-

19,4 мм. Через

ми лишилися в

ула від прогрес-

ово з проміжками

5 мл; 2,5 мл. Через

підшкірне щеплення

ції) і 18 нормаль-

у 8 піддослід-

піддослідної

— 17,0 мм. Че-

хлинами лиши-

ередньої вакци-

інтенсивність

ніж у контроль-

стентність була

значною кіль-

наважки пух-

Таблиця 1

груп

ь

Кількість тварин

з пухлинами

II III

12 14

У сьомій серії 20 мишам шестиразова вакцинація провадилась частіше, а саме з проміжками в 2 дні, в наростаючих дозах: 0,1 мл; 0,2 мл; 0,3 мл; 0,4 мл; 0,5 мл; 0,6 мл (за методом О. Гюнтера, 1955 і Т. Н. Вешезарової, 1956).

Через 11 днів 19 піддослідним (одна миша загинула в період вакцинації) і 19 нормальним мишам було зроблене підшкірне щеплення. Через 14 днів пухлини розвинулись у 13 піддослідних і 19 контрольних тварин. Істотної різниці в дальшому розвитку пухлин у тварин піддослідної і контрольної груп не було виявлено.

Отже, шляхом вакцинації мишей не вдалося домогтися вираженого протипухлинного імунітету, незначна протипухлинна резистентність спостерігалася лише в сьомій серії при більш частій і тривалій вакцинації.

Таким чином, в умовах наших дослідів вакцинація щурів, кроликів і мишей матеріалом, одержаним з наважки пухлинних клітин, оброблених ультразвуком за допомогою апарата УЗ-1 протягом 25 хв. при інтенсивності 4,5 вт/см², викликала певне гальмування росту прищеплених пухлин, не даючи стійкої і вираженої протипухлинної резистентності.

ЛИТЕРАТУРА

- Авдеева Г. И., Бюлл. exper. биол. и мед., № 5, 1955, с. 57.
 Байдакова З. Л., Лежнева О. М., Радзиховская Р. М., Вопросы онкологии, № 5, 1955, с. 10.
 Блохин Н. И., Вестник АМН СССР, № 5, 1956, с. 3.
 Бриккер Ф. М., Врач. дело, № 11—12, 1938, с. 859.
 Бриккер Ф. М., Тимофеева Л. И., в сб.: «Противоопухолевый иммунитет», Днепропетровск, 1939, с. 81; Труды 1-го съезда онкологов УССР, 1940, с. 118.
 Вешезарова Т. Н., Труды Архангельского мед. ин-та, в. 14, 1956, с. 126.
 Грагерова Р. Б., Мед. журн. АН УРСР, т. 20, в. 4, 1950, с. 50.
 Жуков-Вережников Н. Н., Майский И. Н., Гостев В. С., X сессия общ. собрания АМН СССР. Тезисы докладов, М., 1956, с. 38.
 Захаров А. Ф., Бюлл. exper. биол. и мед., № 2, 1958, с. 105.
 Зильбер Л. А., Успехи соврем. биологии, т. 30, № 2, 1950, с. 188; там же, т. 35, № 3, 1953, с. 383; ЖМЭИ, № 9, 1954, с. 64.
 Ковтунович Г. П., Врач. дело, № 2, 1948, с. 105.
 Косяков П. Н., X сессия общ. собрания АМН СССР, М., 1956, с. 47.
 Кричевський А. М., Синельников З. І., Укр. мед. журн., № 2, 1927, ЖМЭИ, № 12, 1941, с. 97; там же, № 7, 1942, с. 78.
 Нафтольев Я. А., Бюлл. exper. биол. и мед., № 6, 1940, с. 395.
 Подільчак М. Д., Мед. журн. АН УРСР, т. 22, в. 6, 1952, с. 57.
 Радзиховская Р. М., ЖМЭИ, № 10, 1950, с. 27; там же, № 1, 1952, с. 20; в сб.: «Вопросы патогенеза и иммунологии опухолей», М., 1956, с. 248.
 Свет-Молдавский Г. Я., Вопросы онкологии, № 6, 1955, с. 55.
 Халецкая Ф. М., Труды Пермского мед. ин-та, в. 26, 1957, с. 89.
 Benad G., Frohberg H., Z. Krebsforsch., 61, Nr. 5, 1957, S. 444.
 Besredka, Ann. de l'Inst. Pasteur, 55, 1935, 491; там же, 57, 1936, 343; Сов. мед., № 2, 1937, с. 3.
 Cheever F., Morgan H., Cancer Res., 2, Nr. 10, 1942, 675.
 Fink M., Snell G., Kelton D., Cancer Res., 9, 1953, 666.
 Frohberg H., Matthies E., Z. Krebsforsch., 60, Nr. 4, 1955, 456; 61, Nr. 1, 1956, 31.
 Günther O., Zbl. Bakteriол., Parasitenkunde, Infektionskrankh. und Hyg., I Abt. Orig., 164, № 1—5, 1955, 33.
 Jamada M., Takano K., Japan J. Cancer Res., 46, Nr. 2—3, 1955, 388.
 Kidd J., в сб.: «Биологические основы злокач. роста», М. 1950, с. 360.
 Saphir O., Appel M., Strauss A., Cancer Res., I, Nr. 7, 1941, 545.
 Stone H., Transplantat. Bull., 3, Nr. 1, 1956, 18.

Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця
 Академії наук УРСР,
 лабораторія компенсаторних і захисних функцій
 і лабораторія фізіології кровообігу і дихання

Надійшла до редакції
 1.II. 1959 р.

Литерату
 о том, что д
 холевой вак
 тальных иссл
 нию вакцин
 ультразвуком
 вакцинации с

Профиль
 ток (из расче
 мы Броуна—
 денный физи
 щали в стек
 тонкой рези
 4,5 вт/см². І
 кроликов и
 внутрибрюш
 холевой мате

В услови
 териалом, по
 ультразвуком
 4,5 вт/см² в
 следующем о
 зой резистент

The data
 ther experim
 preventive an
 tions on the
 sound. The au
 cells pre-tre

A suspen
 or Brown—P
 Ehrlich's asc
 through a do
 bottom of wh
 intensity of
 The vaccinat
 cutaneous, i
 morous mate
 an unirradia

Under th
 and mice wi
 with ultraso
 sq cm, induce
 ted tumour, b
 ance.

К вопросу о противоопухолевой вакцинации

К. П. Балицкий и М. И. Гуревич

Резюме

Литературные данные, зачастую противоречивые, свидетельствуют о том, что для разрешения вопроса о профилактической противоопухолевой вакцинации необходимо дальнейшее проведение экспериментальных исследований. В частности, отсутствуют исследования по изучению вакцинирующей способности опухолевых клеток, облученных ультразвуком. Нами и была проведена попытка противоопухолевой вакцинации опухолевыми клетками, обработанными ультразвуком.

Профильтрованную через двойную марлю взвесь опухолевых клеток (из расчета 1 г опухолевой ткани карциномы Герена или карциномы Броуна — Пирс на 10,0 мл физиологического раствора, или разведенный физиологическим раствором 1:13 асцитный рак Эрлиха) помещали в стеклянный цилиндр диаметром 3 см, дно которого затянуто тонкой резиной, и облучали в течение 25 мин. при интенсивности 4,5 вт/см². Промежуточной средой служила вода. Вакцинация крыс, кроликов и мышей проводилась путем подкожного, внутривенного или внутрибрюшинного введения подопытным животным озвученного опухолевого материала.

В условиях наших опытов вакцинация крыс, кроликов и мышей материалом, полученным из взвеси опухолевых клеток, обработанных ультразвуком с помощью аппарата УЗ-1 в течение 25 мин. при 4,5 вт/см² вызывала определенное торможение роста привитых в последующем опухолей, не давая стойкой и выраженной противоопухолевой резистентности.

On Antitumour Vaccination

K. P. Balitsky and M. I. Gurevich

Summary

The data in the literature, frequently contradictory, indicate that further experimental investigations are essential for solving the problem of preventive antitumour vaccination. In particular, there are no investigations on the vaccinating capacity of tumour cells irradiated with ultrasound. The authors conducted a study of antitumour vaccination with tumour cells pre-treated with ultrasonic vibrations.

A suspension of tumour cell (1 g of tumour tissue of Guerin's carcinoma or Brown—Pearce carcinoma per 10.0 ml of physiological solution, or Ehrlich's ascitic cancer diluted 1:13 with physiological solution) was filtered through a double gauze and placed in a glass cylinder 3 cm in diameter, the bottom of which was closed by thin rubber, and irradiated for 25 min at an intensity of 4.5 watts per sq cm. The intermediate medium was water. The vaccination of rats, rabbits and mice was carried out by means of subcutaneous, intravenous or intraperitoneal injections of ultrasonized tumorous material. The subsequent control inoculation was performed with an unirradiated suspension of tumour cells.

Under the conditions of the experiments the vaccination of rats, rabbits and mice with material obtained from a suspension of tumour cells treated with ultrasound by means of the УЗ-1 apparatus for 25 min at 4.5 watts sq cm, induced a definite inhibition of the growth of subsequently inoculated tumour, but did not give rise to stable and pronounced antitumour resistance.