

УДК 616—006—092.9:615.276.4:612.353.2

И. Г. Векслер, В. Н. Рябуха, В. П. Ананенко

РАДИОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ КЛЕТОК ПЕЧЕНИ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ НЕКОТОРЫХ ИММУНОСТИМУЛЯТОРОВ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Известно, что печень выполняет основную антитоксическую функцию в организме и активно участвует в обменных процессах. Кроме того, печень имеет непосредственное отношение к выработке антигенного материала, к обеспечению энергетическими и пластическими ресурсами иммунного ответа организма.

Различные патологические процессы, в том числе опухолевый рост, сопровождаются нарушением функционального состояния печени, а лучевая и химиотерапия опухолей нередко являются причиной иммунодепрессии организма и токсического поражения печени [1, 8, 12]. Поэтому проблема ослабления иммунодепрессии и восстановления реактивности организма в процессе лекарственного и лучевого лечения злокачественных новообразований непосредственно связана с нормализацией функционального состояния печени.

С целью направленного воздействия на реактивность организма в онкологии за последние годы предложены различные средства, в том числе дрожжевой полисахаридный комплекс зимозан и синтетический иммуностимулятор тилорон [1, 2, 9, 16, 19].

Ранее нами [5] было установлено, что у кроликов с внутримышечной карциномой Брауна — Пирс резко возрастает время максимального накопления коллоидного раствора ^{198}Au и снижается скорость его поглощения ретикуло-эндотелиальными клетками печени, тогда как на фоне введения зимозана эти показатели в значительной степени нормализуются. Однако вопрос о влиянии иммуностимуляторов на функциональное состояние печени в целом не подвергался детальному изучению. Задачей настоящего исследования явилось сравнительное радиометрическое изучение влияния зимозана и тилорона на функциональное состояние гепатоцитов и ретикуло-эндотелиальных клеток печени кроликов с карциномой Брауна — Пирс.

Методика исследований

Опыты проведены на здоровых кроликах и на кроликах с подкожно привитой опухолью Брауна — Пирс. Всего использовано 47 животных (самцов) весом 2—2,5 кг. Животные были распределены на следующие группы: I — здоровые кролики без опухоли (норма); II — нелеченные кролики с опухолью (контроль); III — кролики с опухолью, леченные зимозаном; IV — кролики с опухолью, леченные тилороном.

Введение иммуностимуляторов осуществлялось с восьмого дня после перевивки, когда опухоли четко пальпировались. В опытах использовался ампулированный зимозан, который вводили внутримышечно в дозе 5 мг/кг трижды с интервалом 4—5 дней. Тилорон [3] вводили перорально в дозе 50 мг/кг трижды с тем же интервалом.

О функциональном состоянии печени судили на основании исследования функции клеток печени (гепатоцитов) с помощью бенгальской розы, меченной радиоактивным йодом (Br^{131}I), и ретикуло-эндотелиальных (купферовских) клеток с помощью коллоидного раствора радиоактивного золота ^{198}Au .

Для исследования функции клеток печени готовый препарат краски Br^{131}I вводили кроликам внутривенно из расчета $1,5\text{--}2\text{ мкКи/кг}$. Показателями функционального состояния были время максимального накопления Br^{131}I в печени и время ее полувыведения. При исследовании функции купферовских клеток коллоидный раствор ^{198}Au вводили внутривенно из расчета $2\text{--}2,5\text{ мкКи/кг}$. Критериями служили показатель крутизны подъема паренхиматозного сегмента — «угол поглощения» в градусах, характеризующий скорость поглощения ^{198}Au ретикуло-эндотелиальными клетками, и время максимального накопления радиоактивного золота в минутах (появление плато на гепатограмме).

Исследования функционального состояния печени подопытных животных проводили на 21—23 день после перевивки опухоли на радиодиагностической установке ДСУ с одним коллимированным датчиком (диаметр входного отверстия 30 мм) и одноканальным самопишущим прибором типа Н-370 АМ.

Результаты исследований и их обсуждение

В таблице представлены данные о функциональном состоянии клеток РЭС печени кроликов после внутривенного введения ^{198}Au и гепатоцитов печени после введения Br^{131}I .

Полученные результаты указывают на нарушения функционального состояния ретикуло-эндотелиальных клеток печени у нелеченых кроликов с опухолью Брауна — Пирса (контроль). Об этом свидетельствует снижение скорости поглощения радиоактивного золота (более пологий подъем кривой и уменьшение «угла поглощения» с $74,4 \pm 2,46^\circ$ в норме до $64,2 \pm 2,11^\circ$), а также времени максимального накопления ^{198}Au в печени (с $5,0 \pm 0,29$ мин в норме до $9,4 \pm 0,85$ мин, $p < 0,01$). У кроликов с опухолью, которым вводили зимозан, происходит стати-

Характеристика функционального состояния клеток РЭС и гепатоцитов печени кроликов по данным исследований с радиоактивным ^{198}Au и бенгальской розой, меченной ^{131}I

Показатель	Здоровые кролики	Кролики с карциномой Брауна—Пирс		
		нелеченые (контроль)	зимозан	тилорон
Клетки РЭС				
$T_{\text{макс}}$	$5,0 \pm 0,29$	$9,4 \pm 0,85$	$7,2 \pm 0,36$	$6,0 \pm 0,69$
p	—	$< 0,01$	$< 0,01$	$> 0,05$
p_1	—	—	$< 0,05$	$< 0,01$
p_2	—	—	—	$> 0,05$
Угол поглощения	$74,4 \pm 2,46$	$64,2 \pm 2,11$	$73,0 \pm 0,95$	$78,8 \pm 2,05$
p	—	$< 0,01$	$> 0,05$	$> 0,05$
p_1	—	—	$< 0,01$	$< 0,01$
p_2	—	—	—	$< 0,05$
Гепатоциты				
$T_{\text{макс}}$	$7,9 \pm 0,74$	$13,6 \pm 1,45$	$9,0 \pm 0,36$	$9,1 \pm 0,78$
p	—	$< 0,01$	$> 0,05$	$> 0,05$
p_1	—	—	$< 0,02$	$< 0,05$
p_2	—	—	—	$> 0,05$
$T_{1/2}$	$28,9 \pm 1,72$	$37,0 \pm 2,32$	$31,9 \pm 1,23$	$25,3 \pm 1,27$
p	—	$< 0,05$	$> 0,05$	$> 0,05$
p_1	—	—	$> 0,05$	$< 0,01$
p_2	—	—	—	$< 0,01$

Примечание. p — достоверность по отношению к норме; p_1 — к опухолевому контролю; p_2 — к зимозану; $T_{\text{макс}}$ — время максимального накопления изотопа I в мин; $T_{1/2}$ — время полувыведения Br^{131}I в мин.

стически значимое по сравнению с нелечеными животными уменьшение времени максимального накопления ^{198}Au клетками печени (с $9,4 \pm 0,85$ мин до $7,2 \pm 0,36$ мин, $p_1 < 0,05$). «Угол поглощения» при этом увеличивается с $64,2 \pm 2,11$ до $73,0 \pm 0,95^\circ$, приближаясь к соответствующему показателю в норме ($p < 0,05$).

Значительный интерес, с нашей точки зрения, представляют результаты, полученные при изучении функционального состояния клеток РЭС печени кроликов после введения тилорона. Из табл. 1 видно, что у кроликов с карциномой Брауна — Пирс после применения тилорона функциональная активность клеток РЭС печени восстанавливается почти до нормального уровня. Так, время максимального накопления ^{198}Au у этих животных составляет $6,0 \pm 0,69$ мин ($p > 0,05$), а «угол поглощения» — $78,8 \pm 2,05^\circ$. Некоторое увеличение «угла поглощения» у животных, получавших тилорон, по сравнению с нормой оказалось статистически недостоверным ($p > 0,05$).

Как видно из таблицы, у нелеченых животных с опухолью резко увеличивается время накопления и полувыведения Br^{131}I печенью. Если у здоровых кроликов эти показатели составляют $7,9 \pm 0,74$ и $28,9 \pm 1,72$ мин соответственно, то при росте карциномы Брауна — Пирс время максимального накопления гепатоцитами Br^{131}I возрастает в 1,7 раза (до $13,6 \pm 1,45$ мин, $p < 0,01$), а период полувыведения — в 1,3 раза (до $37,0 \pm 2,32$ мин, $p < 0,05$).

У кроликов с карциномой Брауна — Пирс, которым вводили зимозан, время максимального накопления Br^{131}I значительно сокращается (до $9,0 \pm 0,36$ мин) по сравнению с соответствующим показателем у нелеченых животных ($p_1 < 0,02$). При этом уменьшается время полувыведения красителя до $31,9 \pm 1,23$ мин.

Под влиянием тилорона время максимального накопления Br^{131}I гепатоцитами печени животных с опухолью также значительно уменьшается, составляя $9,1 \pm 0,78$ мин ($p_1 < 0,05$), а время полувыведения красителя — до $25,3 \pm 1,27$ мин ($p_1 < 0,01$), статистически существенно отличаясь от показателей в контроле. Полученные данные говорят о том, что процесс накопления Br^{131}I клетками печени животных с опухолью под влиянием тилорона и зимозана нормализуется в равной степени, тогда как нормализующий эффект тилорона на процесс выведения красителя проявляется ярче, чем зимозана.

При обсуждении полученных результатов прежде всего необходимо подчеркнуть то обстоятельство, что хотя тилорон и зимозан по своему происхождению и химическому строению принадлежит к совершенно различным классам соединений, оба эти вещества обладают широким и во многом сходным спектром биологического действия. Так, диэтиламиновое производное флуорена — тилорон в определенных дозах стимулирует ретикуло-эндотелиальную систему, усиливает выработку 19 S-иммуноглобулинов, повышает фагоцитарный потенциал организма, тормозит рост ряда перевивных и индуцированных опухолей, защищает животных от бактериальных и вирусных агентов, ослабляет иммунодепрессивное влияние химических канцерогенов, усиливает цитотоксическое действие противоопухолевых препаратов и др. [9, 16, 19 и др.]. При многократном пероральном введении тилорона у онкологических больных повышается содержание общего белка сыворотки крови и не нарушается ферментативная активность печени [21].

Подобным действием обладает и биополимер дрожжевых оболочек — зимозан, который при парентеральном введении в малых дозах повышает фагоцитарные свойства элементов РЭС [17], усиливает пролиферацию купферовских клеток печени [18], увеличивает содер-

жание специфических антител [13], тормозит рост экспериментальных новообразований или ускоряет их рассасывание [4, 14], повышает резистентность животных к инфекциям [20].

Под влиянием зимозана у больных со злокачественными новообразованиями и хроническими заболеваниями желудочно-кишечного тракта повышается биосинтез β и γ -глобулинов сыворотки крови [7], стимулируется образование свободных SH-групп в печени, увеличивается фагоцитарная функция внепеченочной части РЭС и ретикуло-эндотелиальных клеток печени [7, 10].

Приведенные данные литературы позволяют с полной уверенностью констатировать, что под влиянием тилорона и зимозана стимулируется синтез специфических белков в клетках печени и других элементах РЭС. Подобное увеличение синтеза белков наблюдается и под влиянием некоторых бактериальных полисахаридов, чем объясняется не только их адъювантное действие, но и свойство увеличивать пластическую и дезинтоксикационную функцию печени [6, 15]. При этом под влиянием полисахаридов резко возрастает энергетический обмен в клетках печени и других органах [11], а это означает, что в клетках печени увеличивается энергетическая база для повышения функциональной активности.

Учитывая изложенное, можно предположить, что в основе выявленного нами повышения функционального состояния гепатоцитов и ретикуло-эндотелиальных клеток печени животных с растущей опухолью под влиянием зимозана и тилорона лежат те же механизмы, что и при действии некоторых бактериальных полисахаридов.

Таким образом, результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что подкожно растущая карцинома Брауна — Пирс понижает функциональную активность гепатоцитов и ретикуло-эндотелиальных клеток печени кроликов, а полисахарид зимозан и синтетический иммуностимулятор тилорон оказывают определенное нормализующее действие на функциональное состояние печени. В наших экспериментах нормализующий эффект тилорона на функциональное состояние гепатоцитов выражен более отчетливо, чем зимозана.

Полученные данные являются, на наш взгляд, экспериментальным обоснованием для более широкого и целенаправленного применения зимозана и тилорона в комплексной терапии злокачественных новообразований.

Выводы

1. У кроликов с подкожно растущей карциномой Брауна — Пирс снижена скорость поглощения и увеличено время накопления радиоактивного золота ^{198}Au ретикуло-эндотелиальными клетками печени. У этих животных также значительно увеличено время максимального накопления бенгальской розы, меченной ^{131}I , гепатоцитами печени и период ее полувыведения.

2. Под влиянием зимозана и тилорона у животных с опухолью Брауна — Пирс, судя по данным радиометрического исследования, происходит частичное восстановление функциональной способности гепатоцитов и ретикуло-эндотелиальных клеток печени.

3. Нормализующее действие зимозана и тилорона на функциональное состояние гепатоцитов и ретикуло-эндотелиальных клеток печени выражено почти одинаково, однако процесс полувыведения БР ^{131}I гепатоцитами печени происходит быстрее под влиянием тилорона, чем под влиянием зимозана.

Литература

1. Балицкий К. П., Векслер И. Г. Реактивность организма и химиотерапия опухолей.— К.: Наукова думка, 1975.—254 с.
2. Басс-Шадхан Х. Ф. Зимозан.— Рига: Зинатне, 1970.—314 с.
3. Богатский А. В., Грень А. И., Литвинова Л. А., Лемпарт Г. В. О синтезе 2,7-бис-[2-(диэтиламино)этокси]-флуорен-9-она.— Доклады АН УССР, серия Б, 1976, № 7, с. 610—612.
4. Векслер И. Г. Влияние зимозана на некоторые защитные реакции системы соединительной ткани и опухолевый рост в эксперименте.— Вопросы экспериментальной онкологии. К.: Здоров'я, 1968, 3, с. 203—209.
5. Векслер И. Г., Ананенко В. П. Экспериментальное исследование комплексного применения АПС и зимозана в терапии злокачественных новообразований.— Онкология. К., 1978, в. 10, с. 26—31.
6. Веселкин П. В. О механизме лечебного действия пирогенала.— В кн.: Пирогенал, М.: Медицина, 1965, с. 7—16.
7. Закенфельд Г. К. Реакция глобулиновых фракций сыворотки крови больных со злокачественными опухолями, получивших зимозан и антибластические средства в сочетании с зимозаном.— В кн.: Зимозан в эксперименте и клинике. Рига: Зинатне, 1971, с. 163—169.
8. Кавецкий Р. Е. Об общих изменениях в организме при химиотерапии и их значение в ее эффективности.— В кн.: Первая Всесоюзная конференция по химиотерапии злокачественных опухолей. Рига, 1968, с. 50—53.
9. Кавецкий Р. Е., Балицкий К. П., Векслер И. Г. и др. Тилорон — синтетический иммуностимулятор, обладающий противоопухолевой активностью.— Вопросы онкологии, 1977, 23, № 11, с. 88—93.
10. Ланса Р. Х. Влияние зимозана на функцию печеночных и костномозговых элементов РЭС у больных хроническими заболеваниями желудка.— В кн.: Зимозан в эксперименте и клинике. Рига: Зинатне, 1971, с. 179—185.
11. Нейфах С. А., Здродовская Е. П. Об изменениях фосфоорганического обмена печени при перегревании и экспериментальной лихорадке.— В кн.: Ежегодник Института экспериментальной медицины АМН СССР.— Л., 1956, с. 214.
12. Пивнюк В. М. Распределение противоопухолевых химиопрепаратов в организме и их влияние на функции печени.— Автореф. дис. ... канд. мед. наук.— К., 1969.—18 с.
13. Самойлина Н. Л. Действие зимозана на антителообразование у кроликов.— ЖМЭИ, 1962, 33, № 9, с. 134.
14. Струк В. И. О влиянии зимозана на некоторые показатели естественного иммунитета.— Врачебное дело, 1966, № 2, с. 73—75.
15. Учитель И. Я., Хасмаз Э. Л. О механизме адьювантного действия пирогенала.— В кн.: Пирогенал, 1965. М.: Медицина, 1965, с. 7—16.
16. Adamson R. H. Antitumor activity of tilorone hydrochloride against some rodent tumors.— J. Nat. Cancer Inst., 1971, 46, N 2, p. 431—434.
17. Gorstein F., Benaceraff B. Hyperactivity of the reticuloendothelial system and experimental anemia in mice.— Amer. J. Pathol., 1960, 37, N 5, p. 569—582.
18. Kelly L. S., Dobson E. L., Finney C. R., Hirsch J. D. Proliferation of the reticuloendothelial system in the liver.— Amer. J. Physiol., 1960, 198, p. 1134—1138.
19. Munson A. E., Munson J. A., Regelson W., Wampler G. L. Effect of tilorone hydrochloride and congeners on reticuloendothelial system, tumors, and the immune response.— Cancer Res., 1972, 32, p. 1397—1403.
20. Ross O. A. Experimental studies of the in vivo relationships of the properdine system to resistance to infection.— Amer. J. Pathol., 1958, 34, N 3, p. 471—485.
21. Wampler G. L., Kuperminc M., Regelson W. Phase I study of tilorone, a non-marrow depressing antitumor agent.— Cancer Chemotherapy Reports, 1973, 57, part 1, N 2, p. 209—217.

Институт проблем онкологии им. Р. Е. Кавецкого
АН УССР

Поступила в редакцию
26.XII 1978 г.

I. G. Veksler, V. N. Ryabukha, V. P. Ananenko

RADIOMETRIC DETERMINATION OF THE FUNCTIONAL STATE OF THE LIVER CELLS WHEN APPLYING CERTAIN IMMUNOSTIMULATORS IN THE EXPERIMENT

Summary

Radiometric studies were carried out of the functional state of the liver hepatocytes and reticulo-endothelial cells in rabbits with developed Brown-Pearce carcinoma treated with a synthetic preparation tyloron and zymosan—a polysaccharide of yeast nature.