

УДК 616.71—006

Л. Н. МКРТЧЯН, С. А. ПАПОЯН, С. Г. ШУКУРЯН

ВЛИЯНИЕ КОСТНОГО КЕЙЛОНА НА РАЗВИТИЕ ИНДУЦИРОВАННОЙ КОСТНОЙ ОПУХОЛИ

Разработан метод выделения кейлонсодержащего экстракта (КСЭК) из костей здоровых кроликов. Изучено действие КСЭК на рост и развитие индуцированных костных опухолей. Установлено торможение роста остеогенных сарком у крыс и в отдельных случаях обратное их развитие. Предполагается использование КСЭК в качестве тканеспецифического ингибитора пролиферативных и неопластических процессов.

Изучение внутритканевых механизмов регуляции клеточной пролиферации в настоящее время считается одной из особо актуальных проблем биологии и медицины.

Известно, что клеточное равновесие осуществляется различными системами организма. Не вызывает сомнения и существование местных эндогенных рост-регулирующих факторов, носящих тканевоспецифический характер. К ним относятся и кейлоны, описанные впервые Bullough [6].

Интерес к глубокому и всестороннему изучению различных свойств кейлонов прежде всего объясняется тем, что они выступают в роли тканевоспецифических ингибиторов митозов не только нормальных, но и опухолевых клеток. Кейлоны выделены из большинства органов животных и человека [6—11].

В отношении костного кейлона имеется лишь сообщение Videman [12] об ингибции пролиферации остеобластов (культивируемых *in vivo* в двойной диффузионной камере) при помощи гомогената костной ткани. Поэтому вопрос выделения кейлона из костной ткани и испытания его действия на индуцированную остеогенную саркому представляет определенный интерес.

Применение остеотропных радиоактивных изотопов открыло широкие возможности для воспроизведения костных опухолей в эксперименте. Некоторые радиоактивные изотопы, в частности стронций, иттрий, барий, прометий, при попадании в организм долго инкорпорируются в костях и, вызывая в них глубокие нарушения метаболизма, в конечном итоге приводят к возникновению злокачественных новообразований [2, 5].

Для индукции костных опухолей у крыс при помощи стронция-90 применяются дозы 0,4—0,5 микрокури на грамм веса. Лучевая болезнь при этом развивается довольно торпидно, и предопухолевые изменения в костной ткани успевают приобрести черты злокачественности до развития лучевой патологии. При введении стронция-90 в указанной выше дозе опухоли появляются через 6—7 месяцев. Вначале происходит своеобразная перестройка костной ткани с признаками атипии, а затем уже истинная малигнизация [1, 3]. Вслед за депонированием стронция-90 в скелете, особенно в метафизах большеберцовой и бедренной костей, начинается длительное и постепенно усиливающееся извращение процесса костеобразования, которое сопровождается перестройкой костной ткани и продукцией атипических структур преимущественно аморфного и волокнистого характера. Затем в различных участках появляются тканевые пролифераты, состоящие из незрелых атипических элементов и несовершенных костных и предкостных структур. Тканевые пролифераты в дальнейшем распространяются по костномозговому каналу. Эта стадия является началом истинного злокачественного роста. В последующие сроки опухолевые элементы, бурно пролиферируя, заполняют костномозговую полость и, разрушая корковый слой, прорываются в окружающие кость ткани. У крыс опухоль в основном развивается в метафизе бедренной кости (43—48%), или в проксимальной части большеберцовой кости (40%), реже в других отделах скелета [2, 4].

Экспериментальные костные опухоли по своим биологическим особенностям, течению заболевания, процессу метастазирования и семиотике рентгенологической картины близко стоят к однозначной патологии человека.

Материал и методика

КСЭК получали из бедренной, большеберцовой, малоберцовой костей здоровых 1,5—2-месячных кроликов. Непосредственно после забивки извлекали кости конечностей и тщательно отсепаровывали их от мышц и сухожилий. Под струей дистиллированной воды вымывали костномозговой канал с целью быстрого освобождения от миелоидной ткани. Кость измельчали до порошкового состояния. Процедура выполнялась в холодных условиях с использованием жидкого азота. Костный порошок гомогенизировали в стеклянном гомогенизаторе из расчета 1 г на 4 мл дистиллированной воды. Гомогенат центрифугировали на ультрацентрифуге типа УАС при условиях: $g \times 105000$, температура $+4^{\circ}\text{C}$, 40000 об/мин в течение 100 минут. Костный супернатант готовили ежедневно и вводили животным внутривентрально в количестве 1 мл два раза в день с 4-часовым интервалом в течение 6—8 дней.

Опыты ставились на 12 крысах с рентгенологически подтвержденными костными опухолями. Индуцированные костные опухоли получали введением радиоактивного стронция в дозе 0,5 микрокури на грамм веса животного.

Шесть крыс являлись контролем, а остальным шести крысам ежедневно вводили костный кейлон в вышеуказанной дозе. У 5 из 6 крыс опухоль располагалась в проксимальной части большеберцовой кости, а у одной—в метафизе.

Крысы контрольной группы подбирались с опухолями соответствующих локализаций. Так как сроки возникновения индуцированных опухолей, в особенности костных сарком, сильно варьируют, мы были лишены возможности группировать одновременно по несколько животных. Поэтому брали по одному или по два животных со своим контролем. Как контрольные, так и подопытные животные до введения кейлона подвергались рентгенографии; после введения кейлона рентгенография повторялась каждые 15 дней. Критерием оценки действия КСЭК служили результаты патоморфологических исследований опухоли и метастатических узлов.

Рентгенологические исследования, проведенные в динамике, показали, что рост костных новообразований у трех подопытных крыс почти не отличается от контрольных (рис. 1, а, б). Имеет место разрушение

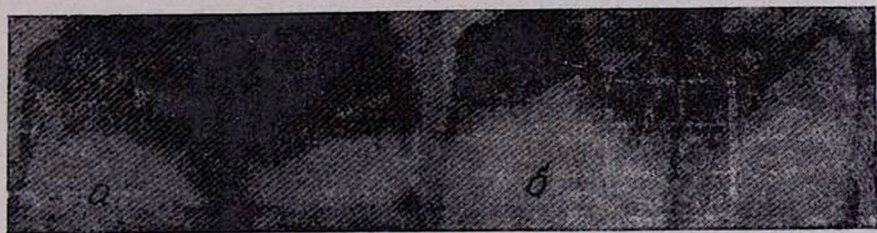


Рис. 1. а. Рентгенологическая картина индуцированной остеогенной саркомы до введения кейлона. б. Рентгенограмма той же опухоли спустя один месяц после введения кейлона.

кортикального слоя с последующим прорывом опухолевой массы в окружающие кость мягкие ткани. К концу 3 и 4-й недели наступает наиболее активная стадия роста опухоли, приводящая к увеличению объема пораженной части конечности в 2—3 раза. В опухолевой ткани вне кости наблюдаются обрывки обызвествленных элементов. Вокруг деструктивных очагов кости отмечается резко выраженное уплотнение костных структур. Наружные контуры опухоли резко очерчены и легко дифференцируются от мягких тканей.

Весьма интересным оказался случай № 4 (рис. 2, а, б).

Как видно из представленных рентгенограмм, опухоль охватывает метафизарный отдел большеберцовой кости с частичным переходом на малоберцовую кость. Здесь также отмечаются отдельные участки костеобразования и остеолиза. Но в отличие от первых трех случаев введение кейлона заметно стабилизировало рост опухоли, тот экспансивный рост, который мы имели в трех предыдущих случаях, здесь отсутствует. После инъекций кейлона имеет место частичное рассасывание

окужающей кость опухолевой массы, которая почти полностью рассосалась через месяц после начала введения кейлона.

Исследования патоморфологической картины индуцированных опухолей показали, что гистологическое строение опухоли отличается разнообразием клеточного состава, межклеточного вещества и костных структур. Опухоль в основном состоит из крупных гетероморфных клеток остеобластического характера (рис. 3, а). Отдельные участки име-



Рис. 2. а. Рентгенограмма индуцированной костной опухоли до введения кейлона. Опухоль охватывает метафизарный отдел большеберцовой кости, частично вовлекая в процесс малоберцовую кость. б. Рентгенограмма конечности того же животного через месяц после введения кейлона. Отмечается почти полное рассасывание опухоли.



Рис. 3. а. Остеогенная саркома с атипичными клетками, напоминающими остеобласты, между которыми имеются бесформенные остеонидные массы, $\times 400$. б. Участок опухоли, имеющий строение фибробластической саркомы. Окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$.

ют строение веретенноклеточной или фибросаркомы. Характерны многочисленные патологические митозы. Между клетками имеются скопления бледно-розовых аморфных белковых масс и тяжелой гомогенной остеоида. В массе межклеточного вещества обнаруживаются одиночные фибриллы и беспорядочно расположенные коллагеновые пучки. Костеобразование проявляется и наличием небольшого количества эозинофильных балочек и спикурообразных структур, обнаруживаемых, главным образом, по краям опухоли. В отдельных полях зрения имеют-

ся остатки предсуществующих костных структур компактного слоя и спонгиозы. Рассасывание последних происходит без участия остеокластов. Сосуды встречаются редко. Имеющиеся капилляры широкие и лишены сплошной эндотелиальной выстилки, что придает им синусоидный вид. Воспалительная клеточная инфильтрация отсутствует (рис. 3, б).

У животных, леченных кейлоном, на месте опухоли обнаружено заметное уменьшение количества атипичных клеток и формирование костных перекладин с определенной функциональной направленностью. В отдельных балках имелось неравномерное оседание зерен известковых солей. В остальных гистологических препаратах у двух крыс опухолевые костные клетки полностью отсутствовали и между балками виднелась обычная остеобластическая ткань (рис. 4 а). У других животных количество атипичных остеобластических клеток по сравнению с нелеченными случаями резко уменьшалось и клеточный состав опухоли становился мономорфным. Митотически делящихся клеток сравнительно мало (рис. 4, б). Важно отметить, что некробиотические изменения со-

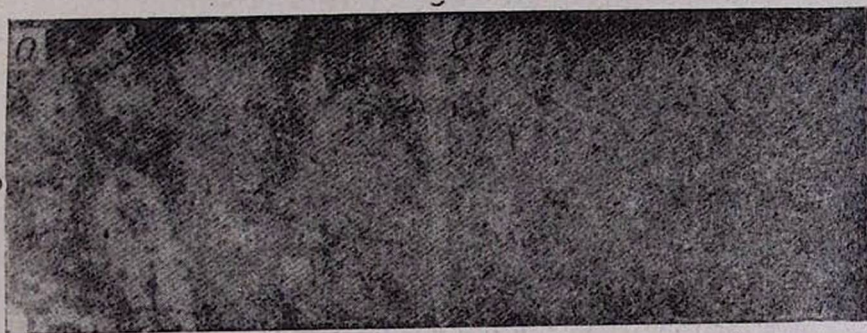


Рис. 4. а. Прimitives костные перекладки, вдоль которых располагаются остеобластические клетки. Неравномерное оседание зерен известковых солей. б. Между тканями гомогенного костного вещества сравнительно мономорфные клетки остеобластического характера. Окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$.

стороны опухолевых клеток слабо выражены. Костное и межклеточное вещество отличалось разной степенью дифференцировки, вплоть до пластинчатого строения и обызвествления костных перекладин. Изредка встречалось напластывание остеоида на предсуществующие костные структуры.

Таким образом, полученные нами данные показывают, что КСЭК кости здоровых кроликов тормозит рост индуцированной радиоактивным стронцием остеогенной саркомы и способствует ее обратному развитию. Это указывает на перспективность дальнейшего изучения костных кейлонов в качестве тканевоспецифических ингибиторов пролиферативных и неопластических процессов.

ՈՍԿԻՐԱՅԻՆ ՔԵՅԼՈՆԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ՆԵՐԱՆՎԱՆ
ՈՍԿԻՐԱՅԻՆ ՈՒՌՈՒՑՔՆԵՐԻ ԱՃԻ ՎՐԱ

Մշակվել է քեյլոն պարունակող ոսկրային մզվածքի անջատման մեթոդը։ Ուսումնասիրվել է այդ քեյլոնի ազդեցությունը ստրոնցիում—90 միջոցով ներածված ոսկրային սարկոմաների աճի և զարգացման վրա։ Պարզվել է, որ ոսկրային քեյլոնի ներարկումները նկատելի չափով ընկճում են ոսկրածին սարկոմաների աճը, առանձին դեպքերում ապահովում նրանց հետաճը։ Քեյլոն պարունակող ոսկրային մզվածքի մանրամասն ուսումնասիրությունները թույլ կտան օգտագործել այն որպես պրոլիֆերատիվ և նեոպլաստիկ պրոցեսների սպեցիֆիկ ընկճող գործոն։

L. N. MKRTCHIAN, S. A. PAPOYAN, S. G. SHOUKOURIAN

EFFECT OF THE BONE KYLON ON THE DEVELOPMENT
OF THE INDUCED BONE TUMOR

The methods of elimination of kylon containing extract from the bones of healthy rabbits is worked out. The effect of this extract on the growth and development of induced bone tumors has been investigated. There is observed inhibition of the growth of osteogenous sarcomas in rats and in separate cases—their reverse development. This extract is supposed to be used as a tissue-specific inhibitor of proliferative and neoplastic processes.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Краевский Н. А. Тр. X сессии АМН СССР. М., 1956, стр. 31.
2. Краевский Н. А., Литвинов Н. Н. Тр. Всесоюз. конф. мед. радиол. Киев, 1957, стр. 197.
3. Литвинов Н. Н. Радиационные поражения костной системы. М., 1964.
4. Макарычева Р. И. Отдаленные последствия поражений, вызванных иониз. радиацией. М., 1956, стр. 41.
5. Стрельцова В. Н., Москалев Ю. И. Мед. рад., 1957, 5, стр. 39.
6. Bullough W. S. Biol. Rev., 1962, 37, 307.
7. Garcia-gralt E., Rella W., Morales V. Nat. Cancer Inst. Monogr., 1973, 38, 125.
8. Houck C., Kanadallngam K., Kaufman H., Sunshine Geoffrey J. Nat. Cancer Inst., 1976, 56, 5, 899.
9. Paukovist W. R. Nat. Cancer Inst. Monogr., 1973, 38, 147.
10. Rytömaa T., Kivintemi K. Cell. Tiss. Kinet., 1978, 1, 329.
11. Verly W. G. Nat. Cancer Inst. Monogr., 1973, 38, 175.
12. Videman T., Vilpo L. Exp. Path., 2 Bd., 1978, 15, 5, 182.