

ПЕЧЕНЬ

Противоопухолевый экстракт из слизистой оболочки тонкой кишки в лечении холангиогенной опухоли печени (экспериментальное исследование)

Э. И. Гальперин,
Т. Г. Дюжева,
Л. В. Платонова,
Н. И. Шоно,
Н. Н. Ионочкина

Отдел хирургии печени
(зав. – проф. Э.И. Гальперин)
Московской медицинской академии им. И.М. Сеченова

Приведены данные о действии активного противоопухолевого экстракта, полученного из слизистой оболочки тонкой кишки человека и свиньи, на модели слизистого рака (штамм РС-1, эквивалент холангиогенного рака). Опухоль вызвали внутрипеченочной имплантацией крысам 0.1 мл 20% опухолевой взвеси. Лечение начинали спустя 10–12 дней после имплантации опухоли. Супернатант вводили внутрибрюшинным и разработанным селективно-окклюзионным методом. Результаты лечения оценивали на 6 сутки после окончания внутрибрюшинного и на 3, 6 сутки после селективно-окклюзионного введения супернатанта.

При сравнении изменений относительных размеров опухоли при внутрибрюшинном применении супернатантов из слизистой оболочки человека и свиньи ($n = 28$) получены идентичные данные. При объединении двух групп исследований при введении супернатантов отмечена стабилизация или медленный рост опухоли в опытной группе. В контрольной группе рост опухоли продолжался (достоверные различия по критерию хи-квадрат $p = 0.019$). Введение супернатантов приводило к увеличению апоптоза в клетках опухоли.

При селективно-окклюзионном введении супернатанта ($n = 23$) на 6 сутки относительные размеры опухоли в опытной группе были достоверно ниже, чем в контрольной ($p < 0.001$). Достоверно увеличивались процент апоптоза и имелось снижение митозов.

Изменений нормальных органов и тканей не обнаружено.

Anticancer Extract Derived from Small Bowel Mucosa in Therapy of Cholangiocarcinoma

E. I. Galperin,
T. G. Dyuzheva,
L. V. Platonova,
N. I. Shono,
N. N. Ionochkina

Liver Surgery Department
(Chief – prof. E.I. Galperin)
I.M. Sechenov Moscow Medical
Academy

Data concerning the influence of active anticancer extract derived from swine and human small bowel mucosa on the adenocarcinoma model (cell line PC-1, equivalent of cholangiocarcinoma) are presented. Tumor was induced by implantation to rats intrahepatically 0.1 ml of 20% tumor suspension. Therapy began 10–12 days after tumor had been implanted. Supernatant was introduced intraperitoneally or by specially developed selectively occlusive technique. Results of therapy were estimated on 6-th days after intraperitoneal and 32nd and 62th days after selectively occlusive injections had been finished. The comparison of tumor relative sizes after intraperitoneal injections of supernatant derived from swine and human small bowel mucosa revealed no difference between these two groups. In the united group ($n = 28$) stabilization or slow tumor growth were marked after supernatant injection. Tumor growth continued in control group (χ^2 score significance $p = 0.019$). Supernatant injections induced apoptosis in tumor cells. In the group after selectively occlusive supernatant injections ($n = 23$) the relative tumor sizes on the 6-th day were significantly smaller comparing with the control ($p < 0.001$). Apoptosis rate increase and reduction of mitosis number also were significant. No changes in normal organs and tissues were revealed.

Клинический опыт убедительно показывает, что развитие опухоли находится в зависимости от многих факторов. Она может молниеносно развиваться, давать метастазы, или, наоборот, в течение многих лет “молчать”, оставаясь невидимой. То же происходит после операции: у одних больных стремительно развиваются рецидив или метастазы, у других – в течение десятков лет отсутствуют всякие симптомы. Помимо известных факторов, влияющих на рост и рецидив опухоли (радикальность проведенной операции, множест-

венность поражения, степень зрелости и др.), несомненно, имеются малоизученные эндогенные влияния, которые в основном и определяют направленность процесса.

В настоящее время известно большое число эндогенных субстанций (цитокины, гормоны, ферменты, метаболиты и др.), обладающих цитотоксическим противораковым действием [1–3].

Анализ экстрактов различных тканей млекопитающих показал, что все они содержат в значимых количествах пептиды – продукты эндоген-

ного протеолиза белков, некоторые из которых обладают способностью подавлять деление опухолевых клеток.

В работе [4] представлены данные по изучению активности более 100 пептидов. Показано, что часть из них обладают способностью ингибировать пролиферацию, как опухолевых, так и нормальных клеток *in vitro*.

Мы обратили внимание на то, что в тонкой кишке человека, несмотря на очень высокий темп пролиферации эпителия, которая является предпосылкой многочисленных мутаций, крайне редко обнаруживается развитие злокачественной опухоли. Опухоли тонкой кишки составляют 1.0–1.5% опухолей желудочно-кишечного тракта, тогда как площадь ее слизистой равна 90% слизистой желудка и кишечника [5–13].

Помимо приведенных клинических данных известно, что экстракт из тонкой кишки мыши ингибирует рост нормальных эпителиальных клеток толстой кишки [14], что процесс цикла пролиферации эпителия тонкой кишки подвергается многократному контролю, в результате которого происходит удаление мутированных поврежденных клеток из цикла [15], что в тонкой кишке, в отличие от толстой кишки, имеется специфический продукт (DNA adduct), который играет определенную роль в предотвращении канцерогенеза в эпителии тонкой кишки [16]. Такие факты заставили нас обратиться к слизистой тонкой кишки как к гипотетическому источнику получения экстракта, обладающего противоопухолевым действием.

Материал и методы

Забор тонкой кишки. Учитывая, что приведенные выше клинические наблюдения и литературные данные о редкости развития опухоли в тонкой кишке относятся в основном к человеку, в начале работы мы исследовали удаленные во время операции участки тонкой кишки.

Забор тонкой кишки свиньи производили в условиях скотобойного цеха в течение двух минут после забоя животного. Кишка промывалась проточной водой и помещалась в контейнер с хладонсителем для транспортировки.

Методика получения экстрактов из слизистой тонкой кишки в настоящее время патентуется. Она направлена на получение активного противоопухолевого экстракта. Противоопухолевая активность экстракта (супернатанта) была установлена на культуре клеток гепатомы 27 *in vitro* (д.б.н. Л.А. Денисов, Институт инженерной иммунологии, В.С. Федюкин, Государственный научный центр прикладной микробиологии).

Прививка опухоли и план лечения. Использовали штамм слизистого рака (РС-1, эквивалент холангиогенного рака).

Прививку опухоли осуществляли путем внутривенной имплантации 0.1 мл 20% опухолевой взвеси в долю печени. Лечение супернатантами начинали спустя 10–12 дней после имплантации опухоли.

Супернатант вводили внутривенным и селективно-окклюзионным методом, разработанным в отделе хирургии печени (положительное решение по заявке на получение патента). Контрольную группу во всех экспериментах составили животные, которым после прививки опухоли лечение супернатантами не проводили или внутривенно и селективно-окклюзионным методом вводили физиологический раствор в объеме, соответствующем объему супернатанта.

Проведены следующие серии экспериментов:

1. Внутривенное введение супернатанта.

Серия № 1. Супернатант из слизистой оболочки тонкой кишки человека (концентрация белка по D_{280} 30 опт.ед/мл. 7 инъекций через день, всего 210 опт.ед на курс). Результат лечения оценивали на 6 сутки после последнего введения супернатанта. Количество крыс: опыт $n = 14$, контроль $n = 13$.

Серия № 2. Супернатант из слизистой оболочки тонкой кишки свиньи. Условия те же. Количество крыс: опыт $n = 14$, контроль $n = 9$.

2. Селективно-окклюзионное введение супернатанта

Серия № 3. Супернатант из слизистой оболочки тонкой кишки свиньи. Вводили однократно в объеме 0.6 мл (18 опт.ед на курс) в ветвь воротной вены доли-опухоленосителя печени селективно-окклюзионным методом. Для этого после начала введения супернатанта накладывали зажим на приводящие сосуды (ветвь воротной вены и печеночной артерии ниже места пункции) и отводящий сосуд (долевую печеночную вену). Время окклюзии составляло 5 мин, таким образом супернатант оказывался в замкнутом пространстве доли-опухоленосителя. После снятия зажимов кровотоки восстанавливали.

В отличие от внутривенного введения при селективно-окклюзионном введении обеспечивался более длительный контакт супернатанта с опухолью, при этом значительно снижалась общая доза введенного супернатанта.

Результат лечения оценивали на 1, 3, 6 и 10 сутки после лечения. Количество крыс: опыт $n = 68$, контроль $n = 47$.

Оценка результатов лечения

Оценку результатов лечения производили по динамике роста опухоли и морфологическим изменениям. Последний анализ необходим, так как в размер опухоли могут входить резко измененные ее участки (поля некрозов и апоптозов), которые макроскопически не могут учитываться при измерении размеров опухоли.

Оценку динамики роста опухоли производили по данным объема опухоли (V) и по % изменения объема опухоли после лечения каждой особи. V опухоли рассчитывали по формуле:

$$V = a \times b^2 \times \pi/6,$$

где a – максимальный диаметр опухоли, b – минимальный диаметр опухоли [21, 22]. Относительное изменение рассчитывали по формуле:

$$\frac{V_1 - V_0}{V_1} \times 100\%,$$

где V_0 – объем опухоли до лечения, V_1 – объем опухоли после лечения.

Помимо этого определяли изменение объема опухоли до и после лечения в % и оценивали степень относительного изменения объема по следующей шкале: изменения объема нет или объем опухоли после лечения уменьшился – 1, увеличение объема опухоли не превышает 100% – 2, увеличение объема опухоли превышает 100% – 3.

Такая относительная оценка изменения объема опухоли до- и после лечения в сравнении с контролем необходима, так как абсолютные величины объема опухоли у разных крыс колеблются в очень больших пределах и зависят от индивидуальных особенностей животных, их восприимчивости или, наоборот, толерантности к прививке опухоли и лечению.

Морфологические исследования (световая микроскопия) проведены сотрудником Онкологического научного центра им. Н.Н. Блохина, профессором Н.Т. Райхлиным и к. м. н. А.М. Несветовым. Обращали внимание на площадь некрозов, проценты митозов и апоптоза, лимфоидно-клеточную инфильтрацию, а также состояние паренхимы печени. Для подсчета % клеток в состоянии некроза, апоптоза или митоза при увеличении 400 производили подсчет 100 клеток и выявляли среди них клетки в указанных соотношениях. Исследовали 5 полей зрения на каждом препарате.

Статистическую обработку (зав. лабораторией медико-математических исследований НИИ нейрохирургии им.Н.Н. Бурденко, к. м. н. М.А. Шифрин) производили с помощью U-критерия Манна-Уитни, парного критерия Вилкоксона, критерия хи-квадрат, используя анализ относительных изменений размеров опухоли.

Результаты

1. Действие супернатантов на рост опухоли РС-1 при внутрибрюшинном введении

В сериях № 1 и № 2 представлены данные, позволяющие сравнить влияние лечения супернатантами, полученными из слизистой оболочки человека и свиньи (табл. 1 и табл. 2).

Из табл. 1 видно, что при использовании супернатанта, приготовленного из тонкой кишки человека, у 14 крыс были получены следующие

данные: опухоль уменьшилась или роста не было у 5 животных, рост опухоли не превышал 100% – у 5 и рост превышал 100% – у 4 крыс. При этом в контроле ($n = 13$) роста не было у 1 крысы, рост менее 100% был у 4 крыс и более 100% у 8 крыс.

При использовании супернатанта из кишки свиньи ($n = 14$, см. табл.2) уменьшение опухоли и отсутствие роста наблюдалось у 8 крыс, рост опухоли 100% – у 2 и более 100% – у 4 животных. При этом в контроле ($n = 9$) роста не было у 3, рост менее 100% наблюдался у 1 и значительный рост у 5 крыс.

При сравнении распределений в группах табл. 1 и 2 по степени относительного изменения размеров опухоли можно считать, что эти группы выбраны из одной генеральной совокупности (критерий Манна-Уитни дает вероятность различия 0.20). При сравнении опытных и контрольных групп получены аналогичные результаты: 0.56 для опытных групп и 0.44 для контрольных.

При статистическом анализе относительных изменений размеров опухоли различий между действием супернатантов, приготовленных из слизистой оболочки тонкой кишки человека и свиньи, получено не было. При объединении двух групп исследований (использование супернатантов, полученных из двух источников) получено достоверное отличие в опытной и контрольной группе: в опытной группе отмечена стабилизация или медленный рост опухоли, в контрольной – рост опухоли продолжался (достоверность различий по критерию хи-квадрат $p = 0.019$).

Данные морфологического исследования у крыс с опухолью после лечения супернатантами, полученными из слизистой оболочки тонкой кишки человека и свиньи, представлены в табл. 3 и 4. Из табл. 3 и 4 следует, что введение супернатантов, приготовленных как из слизистой оболочки тонкой кишки человека, так и свиньи, приводило к увеличению апоптоза в клетках опухоли и не оказывало достоверного влияния на митотическую активность, а также на формирование некрозов.

Из приведенных серий можно сделать следующие выводы:

1. Супернатанты, приготовленные из слизистой оболочки тонкой кишки человека и свиньи обладают тождественным угнетающим действием на рост опухоли РС-1.

2. Возможность использования супернатанта, приготовленного из тонкой кишки свиньи, открывает перспективы для получения супернатанта в больших количествах.

2. Действие супернатантов на рост опухоли РС-1 при селективно-окклюзионном введении

Размеры опухоли до и через 3 и 6 суток после введения супернатанта представлены в табл. 5, 6 и на рис. 1.

Таблица 1. Влияние супернатанта, полученного из тонкой кишки человека, на рост опухоли РС-1

| Опыт | | | | | Контроль | | | | |
|-------|----------------------------------|---------------|----------------------|-------------------|----------|----------------------------------|---------------|----------------------|-------------------|
| № п/п | Объем опухоли (мм ³) | | Изменение объема (%) | Степень изменения | № п/п | Объем опухоли (мм ³) | | Изменение объема (%) | Степень изменения |
| | до введен. | после введен. | | | | до введен. | после введен. | | |
| 1. | 41.6 | 382.2 | 821 | 3 | 1. | 209 | 2002 | 858 | 3 |
| 2. | 18.7 | 23.4 | 25 | 2 | 2. | 41.6 | 247.4 | 495 | 3 |
| 3. | 41.6 | 14.0 | -66 | 1 | 3. | 104 | 146 | 40 | 2 |
| 4. | 91 | 149.7 | 65 | 2 | 4. | 203 | 237.1 | 17 | 2 |
| 5. | 49.9 | 91.0 | 86 | 2 | 5. | 766.8 | 4711 | 515 | 3 |
| 6. | 117 | 399 | 241 | 3 | 6. | 133.1 | 132.0 | -1 | 1 |
| 7. | 6.24 | 6.24 | 0 | 1 | 7. | 14 | 203.8 | 1356 | 3 |
| 8. | 23.4 | 5.8 | -75 | 1 | 8. | 23.4 | 49.9 | 113 | 3 |
| 9. | 4.16 | 18.7 | 350 | 3 | 9. | 41.6 | 56.1 | 35 | 2 |
| 10. | 18.7 | 29.1 | 56 | 2 | 10. | 14.0 | 20.2 | 44 | 2 |
| 11. | 14.0 | 0.52 | -96 | 1 | 11. | 58.2 | 229.3 | 294 | 3 |
| 12. | 4.16 | 18.7 | 350 | 3 | 12. | 4.16 | 104 | 2460 | 3 |
| 13. | 23.4 | 23.4 | 0 | 1 | 13. | 4.16 | 18.7 | 350 | 3 |
| 14. | 229.3 | 312 | 36 | 2 | | | | | |

Таблица 2. Влияние супернатанта, полученного из тонкой кишки свиньи, на рост опухоли РС-1.

| Опыт | | | | | Контроль | | | | |
|-------|----------------------------------|---------------|----------------------|-------------------|----------|----------------------------------|---------------|----------------------|-------------------|
| № п/п | Объем опухоли (мм ³) | | Изменение объема (%) | Степень изменения | № п/п | Объем опухоли (мм ³) | | Изменение объема (%) | Степень изменения |
| | до введен. | после введен. | | | | до введен. | после введен. | | |
| 1. | 117 | 65 | -44 | 1 | 1. | 49.9 | 49.9 | 0 | 1 |
| 2. | 117 | 2129 | 1720 | 3 | 2. | 91 | 505.4 | 414 | 3 |
| 3. | 143 | 243.4 | 70 | 2 | 3. | 366 | 156 | -210 | 1 |
| 4. | 224.6 | 262.1 | 17 | 2 | 4. | 224.6 | 1198.1 | 433 | 3 |
| 5. | 91 | 2340 | 2471 | 3 | 5. | 130 | 1647 | 1162 | 3 |
| 6. | 65 | 589.7 | 807 | 3 | 6. | 78 | 2008 | 2474 | 3 |
| 7. | 254.8 | 224.6 | -12 | 1 | 7. | 254.8 | 14 | -95 | 1 |
| 8. | 168.5 | 143 | -15 | 1 | 8. | 229.3 | 266.2 | 16 | 2 |
| 9. | 0.52 | 0.52 | 0 | 1 | 9. | 0.52 | 41.6 | 7900 | 3 |
| 10. | 58.2 | 18.7 | -68 | 1 | | | | | |
| | 41.6 | 78 | 88 | 2 | | | | | |
| | 4.2 | 0 | -100 | 1 | | | | | |
| 11. | 78 | 33.3 | -57 | 1 | | | | | |
| 12. | 178.4 | 18.7 | -90 | 1 | | | | | |
| 13. | 104 | 91 | -13 | 1 | | | | | |
| 14. | 41.6 | 676 | 1525 | 3 | | | | | |

Таблица 3. Морфологическое исследование опухоли РС-1 у крыс после введения супернатанта, полученного из слизистой оболочки тонкой кишки человека

| № п/п | Группы | Некрозы, % | Апоптоз, % | Митозы, % |
|-------|----------|-------------|------------|-----------|
| 1. | Опыт | 43.8 ± 14.0 | 6.1 ± 1.8 | 0.8 ± 0.1 |
| 2. | Контроль | 45.0 ± 17.4 | 1.8 ± 0.5 | 1.7 ± 0.5 |
| | <i>p</i> | >0.05 | <0.05 | >0.05 |

Таблица 4. Морфологическое исследование опухоли РС-1 у крыс после введения супернатанта, полученного из слизистой оболочки тонкой кишки свиньи

| № п/п | Группы | Некрозы, % | Апоптоз, % | Митозы, % |
|-------|----------|------------|------------|-----------|
| 1. | Опыт | 65.8 ± 7.0 | 2.4 ± 0.3 | 2.0 ± 0.2 |
| 2. | Контроль | 58.1 ± 6.8 | 1.5 ± 0.2 | 2.0 ± 0.3 |
| | <i>p</i> | >0.05 | <0.05 | >0.05 |

Таблица 5. Размеры опухоли печени (РС-1) до и через 3 суток после однократного селективно-окклюзионного введения супернатанта

| Размеры опухоли (мм ³) | | | | | | | |
|------------------------------------|-------------|----------------|---------------------------|----------|-------------|----------------|---------------------------|
| Опыт | | | | Контроль | | | |
| № п/п | до введения | после введения | степень изменения опухоли | № п/п | до введения | после введения | степень изменения опухоли |
| 1 | 14.0 | 6.24 | 1 | 1 | 4.2 | 78 | 3 |
| 2 | 0.52 | 1.04 | 2 | 2 | 23.4 | 130 | 3 |
| 3 | 4.16 | 6.24 | 2 | 3 | 22.3 | 205 | 3 |
| 4 | 14.0 | 18.7 | 2 | 4 | 33.3 | 49.9 | 2 |
| 5 | 18.7 | 18.7 | 1 | 5 | 28.1 | 49.9 | 2 |
| 6 | 33.3 | 78.0 | 3 | 6 | 58.2 | 104 | 2 |
| 7 | 14.0 | 33.3 | 3 | 7 | 78.0 | 254.8 | 3 |
| 8 | 78 | 78 | 1 | 8 | 18.7 | 23.4 | 2 |
| 9 | 6.24 | 18.7 | 3 | 9 | 18.7 | 49.9 | 3 |
| 10 | 66.6 | 229.3 | 3 | 10 | 18.7 | 18.7 | 1 |
| 11 | 168.5 | 131.0 | 1 | 11 | 91.0 | 117.0 | 3 |
| 12 | 32.8 | 58.2 | 2 | 12 | 229.0 | 305.8 | 2 |
| 13 | 49.9 | 23.4 | 1 | 13 | 91 | 117.0 | 3 |
| 14 | 42.1 | 23.4 | 1 | | | | |
| 15 | 18.7 | 18.7 | 1 | | | | |
| 16 | 18.7 | 14.0 | 1 | | | | |
| 17 | 18.7 | 14.0 | 1 | | | | |

На 1 сутки после лечения достоверных различий в динамике размеров опухоли в опытной и контрольной группах не выявлено.

Статистический анализ, проведенный с помощью критерия Манна-Уитни показал, что через 3 и 6 суток (см. табл. 5, 6) после введения супернатанта нет достоверного различия между распре-

делением по размеру опухоли до лечения в опытной и контрольной группах ($p = 0.14$ для 3 суток и 0.061 для 6 суток). Если оба этих опыта рассмотреть вместе, то выборка может рассцениваться как однородная: $p = 0.5$. Таким образом, можно считать, что показатели размеров опухоли в контрольной и опытной группах выбраны из одной генеральной совокупности.

Таблица 6. Размеры опухоли печени (РС-1) до- и через 6 суток после однократного селективно-окклюзионного введения супернатанта

| Размеры опухоли (мм ³) | | | | | | | |
|------------------------------------|-------------|----------------|---------------------------|----------|-------------|----------------|---------------------------|
| Опыт | | | | Контроль | | | |
| № п/п | до введения | после введения | степень изменения опухоли | № п/п | до введения | после введения | степень изменения опухоли |
| 1 | 0.52 | 0.52 | 1 | 1 | 12.5 | 780 | 3 |
| 2 | 1.0 | 0 | 1 | 2 | 0.52 | 203.8 | 3 |
| 3 | 6.24 | 1.04 | 1 | 3 | 6.24 | 131.04 | 3 |
| 4 | 33.3 | 49.9 | 2 | 4 | 6.24 | 28.1 | 3 |
| 5 | 78.0 | 65 | 1 | 5 | 0.52 | 14 | 3 |
| 6 | 6.24 | 0 | 1 | 6 | 0.52 | 463 | 3 |
| 7 | 6.24 | 78 | 3 | 7 | 18.7 | 229.3 | 3 |
| 8 | 8.32 | 28.1 | 3 | 8 | 58.2 | 75.0 | 2 |
| 9 | 41.6 | 41.6 | 1 | 9 | 41.6 | 205.9 | 3 |
| 10 | 23.4 | 6.24 | 1 | 10 | 41.6 | 78 | 2 |
| 11 | 14.0 | 23.4 | 2 | 11 | 14.0 | 78 | 3 |
| 12 | 6.2 | 65.0 | 3 | 12 | 41.6 | 41.6 | 1 |
| 13 | 58.2 | 50.0 | 1 | 13 | 23.0 | 50.0 | 3 |
| 14 | 23.4 | 178.0 | 3 | 14 | 14.0 | 28.0 | 2 |
| 15 | 23.4 | 58.0 | 3 | 15 | 0.5 | 6.2 | 3 |
| 16 | 18.7 | 6.2 | 1 | 16 | 6.2 | 42.0 | 3 |
| 17 | 66.6 | 58.0 | 1 | 17 | 6.2 | 41.6 | 3 |
| 18 | 58.0 | 33.3 | 1 | 18 | 33.0 | 117.0 | 3 |
| 19 | 47.0 | 65.0 | 2 | 19 | 8.3 | 18.7 | 3 |
| 20 | 23.4 | 6.2 | 1 | 20 | 18.7 | 28.0 | 2 |
| 21 | 23.4 | 14.0 | 1 | | | | |
| 22 | 75.0 | 78.0 | 2 | | | | |
| 23 | 33.0 | 6.24 | 1 | | | | |

По степени относительных изменений опухоли до и после лечения получены следующие распределения (табл. 7). Таким образом, различия относительных изменений в опытной и контрольной группах достоверны при измерении размеров на 3 день после лечения и высоко достоверны при измерении размеров на 6 день.

При морфологическом исследовании установлено, что в контрольной группе митозы составляли 2–2.5% на протяжении всех сроков наблюдения, тогда как в опытной группе они снижались до 1.5%. В контрольной группе апоптоз составил 1% и не менялся в течение всего срока наблюдения. В опытной группе отмечено увеличение апоптоза максимально до 3%. После введения супернатанта в опухолях имелось усиление развития стромы и фиброза, а также лимфоидная инфильтрация, то есть имелись данные о повышении дифференцировки опухоли под влиянием воздействия супернатанта.

Количество крыс

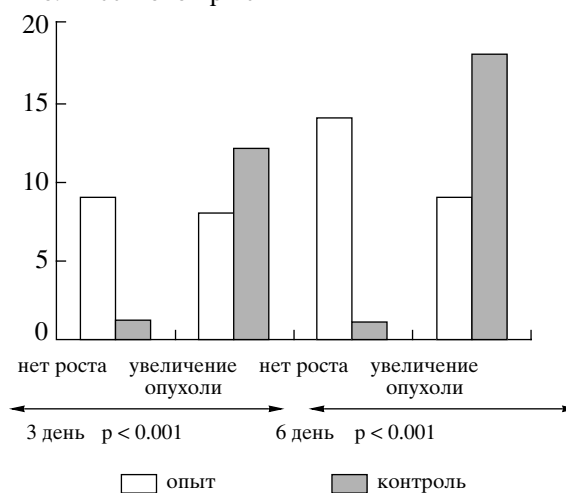
**Рис. 1.** Рост опухоли РС-1 через 3 и 6 дней после селективно-окклюзионного введения супернатанта.

Таблица 7. Относительные изменения опухоли в опытной и контрольной группах в различные сроки

| Группа | Степень относительного изменения опухоли | | | P |
|--------------|--|---|----|-----------|
| | 1 | 2 | 3 | |
| 3 дня, опыт | 9 | 4 | 4 | p = 0.031 |
| контроль | 1 | 5 | 7 | |
| 6 дней, опыт | 14 | 4 | 5 | p < 0.001 |
| контроль | 1 | 4 | 15 | |

3. Действие супернатантов на нормальные ткани

При вскрытии всех животных обращали внимание на наличие выпота в брюшной полости и состояние внутренних органов (печени, почек, кишечника, селезенки, легких, сердца). Каких-либо изменений нормальных органов и тканей (размера, цвета, консистенции) при макроскопическом осмотре органов не выявлено.

Обсуждение

По данным литературы имеются сообщения о получении противоопухолевых агентов из слизистой оболочки тонкой кишки свиньи [17]. Ими являются нуклеопротеиды, доказана их цитостатическая активность *in vitro* и *in vivo* на мышцах с экспериментальной опухолью легких. Данных о влиянии указанных противоопухолевых агентов на солидные опухоли печени в литературе не выявлено.

Методика получения супернатанта, используемая нами, отличается от указанной выше [17] и позволяет получить продукт с другим активным началом.

В нашей работе доказана специфическая противоопухолевая активность супернатантов, полученных из слизистой оболочки тонкой кишки человека и свиньи, на солидной опухоли печени крыс. Исследованы различные пути введения супернатанта. Показано, что разработанный нами селективно-окклюзионный метод введения является более эффективным, чем внутрибрюшинный: противоопухолевый эффект достигался однократным введением (против 7 введений при внутрибрюшинных инъекциях), вводимая доза, соответственно, была в 11,7 раза меньше.

Для увеличения продолжительности противоопухолевого действия необходима дальнейшая разработка схем введения супернатанта и очистка супернатанта от балластных веществ.

Список литературы

1. Нахамияев В.Р. Эндогенные регуляторы в терапии рака // *Анналы хир. гепатол.* 2000. Т. 5. № 1. С. 114–125.
2. Lee K.S., O'Reilly M.S., Liang H. et al. Recombinant human angiostatin protein inhibits experimental primary and metastatic cancer // *Cancer Res.* 1997. V. 57. P. 1329–1334.
3. Kakeji Y., Teicher B.A. Preclinical studies of the combination of angiogenic inhibitors with cytotoxic agents // *Investigation New Drugs.* 1997. V. 15. P. 39–48.
4. Карелин А.А., Блющенко Е.Ю., Иванов В.Т. Фрагменты функциональных белков: роль в эндогенной регуляции // *Нейрохимия.* 1999. № 9. С. 1117–1124.
5. Kolman S.D., Swenson W.H., Minissale A.A., Barsky V.M. Primary malignancy of the small intestine: a diagnostic enigma // *J. Am. Osteopath. Assoc.* 1980. V. 80. № 4. P. 267–270.
6. McPeak C.J. Malignant tumors of the small intestine // *Am. J. Surg.* 1967. V. 114. № 3. P. 402–411.
7. Barclay T.H., Schapira D.V. Malignant tumors of the small intestine // *Cancer.* 1983. V. 51. № 5. P. 878–881.
8. Neugut A.I., Marvin M., Rella V.A., Chabot J.A. An overview of adenocarcinoma of the small intestine // *Oncology (Huntingt).* 1997. V. 11. № 4. P. 529–536.
9. Gore R.M. Small bowel cancer. Clinical and pathologic features // *Radiol. Clin. North. Am.* 1997. V. 35. № 2. P. 351–360.
10. North J.H., Pack M.S. Malignant tumors of the small intestine: a review of 144 cases // *Am. Surg.* 2000. V. 66. № 1. P. 46–51.
11. Arber N., Hibshoosh H., Yasui W. et al. Abnormalities in the expression of cell cycle-related proteins in tumors of the small bowel // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 1999. V. 8. № 12. P. 1101–1105.
12. Postma C.T., Deckers P.F., Driessen W.M. Primary tumors of the small intestine // *Neth. J. Med.* 1986. V. 29. № 9. P. 268–271.
13. Adotey J.V. Primary malignant tumor of the small intestine // *Br. J. Clin. Pract.* 1985. V. 39. N 2. P. 54–58.
14. Skraastad O., Reichelt K. An endogenous colon mitosis inhibitor reduced the increased cell proliferation in colonic epithelium induced by dietary cholic acid and treatment with 1,2-dimethylhydrazine // *Carcinogenesis.* 1989. V. 10. № 1. P. 79–82.
15. Potten C.S. Clonogenic, stem and carcinogen-target in small intestine // *Scand. J. Gastroenterol. Suppl.* 1984. V. 104. P. 3–14.
16. Hamada K., Umamoto A., Kajikawa A. et al. Mucosa-specific DNA adducts in small intestine: a comparison with the colon // *Carcinogenesis.* 1994. V. 15. № 11. P. 2677–2680.
17. Trifonov B.B., Roussev J.K., Boshev N.A. Antitumor agents isolated from intestinal mucosa, a method for their isolation and their application. US Patent № 6,015,878. 2000.

Адрес для переписки:

Дюжева Татьяна Геннадьевна. 115446 г. Москва, Коломенский проезд, 4, ГКБ № 7, 13 х / о тел. 118-82-65, e-mail dlsurgery@mtu-net.ru