

<https://doi.org/10.3176/biol.1971.2.01>

УДК. 591.34+612.44.018+616.24.006.6

ЛЕВ БЕРШТЕЙН

ВЛИЯНИЕ СЫВОРОТКИ КРОВИ ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ И БОЛЬНЫХ РАКОМ ЛЕГКОГО НА МЕТАМОРФОЗ ГОЛОВАСТИКОВ *RANA ESCULENTA*

Метаморфоз бесхвостых амфибий подвержен влиянию ряда экзогенных и эндогенных факторов и в первую очередь воздействию гормона щитовидной железы (Бляхер, 1928; Войткевич, 1945; Дастюг, Сукиер, 1949 и др.). В процессе работы по изучению состояния эндокринной системы при раке легкого нами проводилось исследование влияния сыворотки крови здоровых людей и больных бронхокарциномой на естественный и искусственный (стимулированный тироксином) метаморфоз головастика прудовой лягушки (*Rana esculenta*).

Материал и методика

Было обследовано четверо мужчин, страдавших раком легкого II—III стадий, и четыре абсолютно здоровых донора (тоже мужчины). Кровь для исследования (по 25 мл) бралась из вены утром натощак в первый и третий дни эксперимента. Сыворотка, полученная после часового отстаивания и центрифугирования крови, смешивалась попарно (от первого и второго, от третьего и четвертого больного бронхиальной карциномой). То же производилось в отношении сыворотки доноров. В итоге было получено четыре образца для тестирования, которые соответственно названы — РЛ-I, РЛ-II, Д-I и Д-II. В экспериментах использовалось 5 мл полученной таким образом сыворотки, которая добавлялась к воде, где находились головастики, и тщательно перемешивалась с ней при помощи стеклянной палочки.

Использованные в работе головастики были собраны одновременно из небольшого водоема; наблюдение за ним велось в течение полутора—двух месяцев до начала эксперимента. Из всей массы выловленных головастиков было отобрано 130, одинаковых по размерам и находившихся на одной стадии развития (26-я стадия по П. Терентьеву (Терентьев, 1950)). В процессе измерений определялись: длина тела (l), длина туловища (Cr), длина хвоста (Cd) и ширина туловища (d). У 20 из указанных выше 130 головастиков до начала эксперимента измерялась также длина кишечника (l). Остальные головастики послужили непосредственным материалом для опытов. Чтобы избежать травмирующих манипуляций, обычно практикуемое взвешивание каждого головастика было заменено определением объема воды (V_{10}), вытесненной группой, состоящей из 10 головастиков. По окончании эксперимента вновь определялись все перечисленные показатели, а также измерялась длина задней конечности головастика (Ep). В опытах использовалась водопроводная вода (из расчета 50 мл воды на одного головастика), которая менялась ежедневно в 10—12 ч дня. Никакого корма в течение

всех пяти дней опыта головастики не получали. Тироксин (I — Thyroxine- T_4 -«Reanal», Будапешт) разводился 0,1 н. NaOH до концентрации 1 мг/1 мл и вводился в первый и третий дни эксперимента в количестве 0,5 мг (что давало конечную концентрацию порядка 1 : 1 000 000) в среду обитания тех групп головастика, в название которых входило обозначение T_4 (см. таблицу).

Результаты исследования

Группа	Количество голова- стиков	Показа- тели	V_{10} , мл	l , мм	Cr , мм	Cd , мм	d , мм	Er , мм	I , мм
Исходная-I	110	M	4,8	29,0!	11,4	17,6	7,4!	—	—
		σ	—	2,11	0,99	1,65	0,61	—	—
		t	—	0,20	0,10	0,16	0,06	—	—
Исходная-II	20	M	4,7	28,9	11,9!	17,0	7,4!	—	113,0!
		σ	—	1,83	0,57	1,79	0,49	—	8,87
		t	—	0,41	0,13	0,40	0,11	—	1,98
Контроль	20	M	3,0	28,1	10,9	17,2	6,4	6,5	56,5
		σ	—	1,80	1,66	1,40	0,94	2,75	24,2
		t	—	0,40	0,37	0,31	0,21	0,61	5,41
T_4	10*	M	2,2	13,9!	8,7!	5,2!	5,0!	7,4	9,9!
		σ	—	1,37	0,68	1,23	0,47	0,84	3,03
		t	—	0,43	0,21	0,39	0,15	0,26	0,96
РЛ-I		M	3,5	29,9!	11,3!	18,6!	6,9!	5,2	63,3
		σ	—	0,81	0,82	0,85	1,11	1,22	8,77
		t	—	0,26	0,26	0,27	0,35	0,39	2,78
РЛ-II	10	M	4,2	29,7!	11,8!	17,9	7,1	5,1	75,1!
		σ	—	1,67	0,63	1,29	1,00	1,00	11,75
		t	—	0,53	0,20	0,41	0,32	0,32	3,72
Д-I	10	M	4,0	29,9!	11,6	18,3!	7,2!	5,4	68,1
		σ	—	0,87	1,63	0,67	0,94	1,08	9,70
		t	—	0,28	0,52	0,21	0,30	0,34	3,07
Д-II	10	M	3,8	29,7!	11,7	18,0	7,3!	5,7	65,0
		σ	—	1,34	0,67	0,81	0,48	1,49	9,71
		t	—	0,43	0,21	0,26	0,15	0,48	3,07
РЛ-I+ T_4	10**	M	2,4	18,8!	9,2!	9,6!	5,0!	6,7	15,4!
		σ	—	1,48	0,79	1,08	0,47	0,68	2,17
		t	—	0,47	0,25	0,34	0,15	0,21	0,69
РЛ-II+ T_4	10**	M	2,4	19,6!	9,4!	10,2!	4,8!	7,8	16,3!
		σ	—	2,68	0,70	2,35	0,42	0,63	3,80
		t	—	0,85	0,22	0,74	0,13	0,20	1,23
Д-I+ T_4	10**	M	2,8	19,8!	9,3!	10,5!	5,1!	7,6	14,0!
		σ	—	1,93	0,82	1,35	0,32	1,07	1,56
		t	—	0,61	0,26	0,43	0,10	0,34	0,50
Д-II+ T_4	10**	M	2,5	21,4!	9,6!	11,8!	5,0!	7,5	15,5!
		σ	—	2,01	1,63	1,75	0,66	1,08	4,09
		t	—	0,64	0,51	0,56	0,21	0,34	1,27

Примечание. * — Смерть всех головастика на 4-й день эксперимента; ** — смерть всех головастика на 5-й день эксперимента. M — средняя арифметическая; σ — среднее квадратическое отклонение; t — средняя ошибка средней арифметической. Результаты, статистически достоверно отличающиеся от соответствующих значений в контроле (p — по крайней мере, $< 0,05$), отмечены восклицательным знаком.

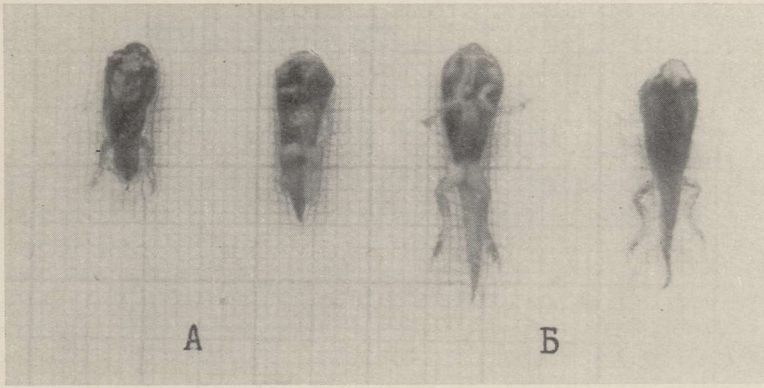
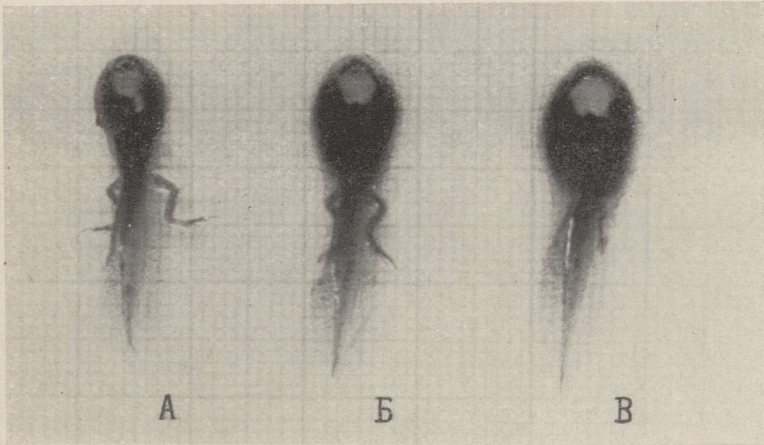
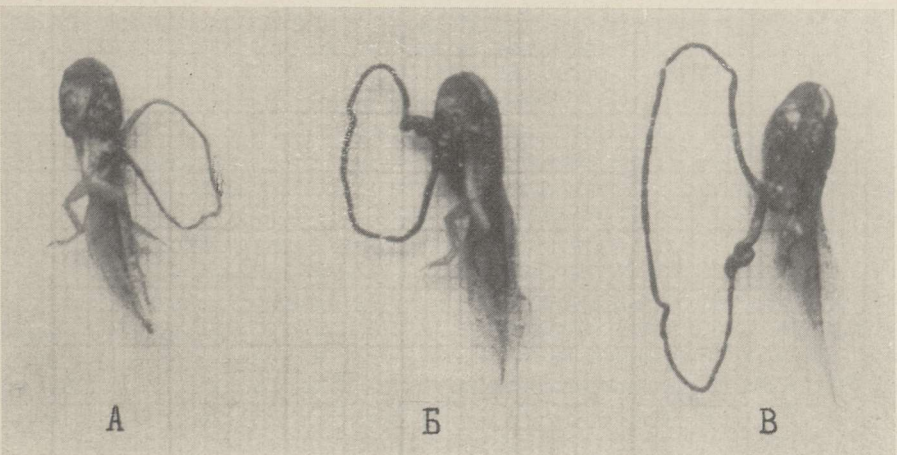


Рис. 1. Влияние сыворотки крови на искусственный метаморфоз головастика. А — головастик группы Т₄. Б — головастик группы Д-II + Т₄.



а



б

Рис. 2. Влияние сыворотки крови на естественный метаморфоз головастика. а) А — контрольный головастик, Б — головастик группы Д-II, В — головастик группы РЛ-II, б) Те же головастики после вскрытия.

Результаты

Как видно из таблицы, контрольные головастики за относительно короткий период времени, в течение которого длился опыт, подверглись определенному метаморфозу, что прежде всего сказалось в двукратном уменьшении длины их кишечника по сравнению с исходными данными. Под влиянием 48-часового содержания (с перерывом на 24 ч) в растворе тироксина (концентрация 1:1 000 000) резкие изменения произошли с головастиками группы T_4 . Аналогичные изменения, но в несколько менее выраженной форме (рис. 1), происходили с головастиками, подвергавшимися совместному воздействию тироксина и сыворотки крови, причем, как показала обработка данных, длина тела и хвоста головастика в группе Д-II+ T_4 оказалась достоверно выше, чем в группе РЛ-I+ T_4 ($p < 0,01$). Метаморфоз головастика, подвергавшегося воздействию сывороткой крови человека без добавления тироксина, протекал медленнее, чем в контрольной группе (рис. 2а, б), что видно, в частности, по изменению длины тела, однако существенная разница по сравнению с контролем в длине кишечника была отмечена лишь в группе РЛ-II ($p < 0,01$).

Обсуждение результатов

По относительно старым работам Р. Белкина (цит. по Дастюг, Сукиер, 1949, с. 82) известно, что препараты, полученные из сыворотки крови животных, лишенных щитовидной железы, подавляют метаморфоз аксолотлей, вызванный малыми дозами тироксина. Сообщалось, что на 58-й день эксперимента длина задних конечностей головастика, подвергавшегося совместному воздействию тироксина и крысиной сыворотки, была в 2,5 раза меньше, чем под влиянием одного тироксина (Medda, Premachandra, 1967). В наших экспериментах, продолжительность которых была значительно короче, выявилось отчетливое торможение искусственного метаморфоза головастика прудовой лягушки под действием сыворотки крови человека, что, как видно, объясняется присутствием в ней тироксинсвязывающих белков. Некоторая разница, обнаруженная в степени торможения, искусственного метаморфоза опухолевой и нормальной сывороткой (Д-II+ T_4 против РЛ-I+ T_4), возможно, связана со снижением тироксинсвязывающей способности при развитии опухолевого процесса (Galton, Ingbar, 1966). Однако это различие в данном случае не нашло своего отражения в соответствующих изменениях длины кишечника головастика, которая, как известно, является наиболее чувствительным индикатором метаморфоза (Бляхер, 1928; Кабак, 1945). Напротив, именно по влиянию на этот показатель одна из сывороток больных раком легкого (РЛ-II) в условиях, когда тироксин не добавлялся к среде обитания подопытных животных, отличалась от других тестируемых образцов сыворотки, что дает возможность говорить о достоверном торможении ею естественного метаморфоза. Данные о подавлении функции щитовидной железы у онкологических больных, в том числе и при раке легкого (Scott и др., 1960; Архипенко, 1967), и о продуцировании опухолями так наз. антитиреоидного фактора (Архипенко, 1965; Claus-Walker, 1967) могут быть, как нам представляется, привлечены для объяснения этого факта. Возможно, что антитиреоидная субстанция, продуцируемая опухолью, действительно выходит в сыворотку (Архипенко, 1965) и способна в некоторых случаях оказать тормозящее влияние на метаморфоз. Очевидно, следует принять во внимание и то обстоятельство, что антитиреоидным воздействием обладают также адренкортикотропный гормон гипофиза

(АКТГ) и кортикостероидные гормоны (Halmi, 1952; Скебельская, 1957 и др.), а секреция последних может быть повышена не только при сочетающихся с бронхокарциномой так наз. АКТГ-эктопических эндокринных синдромах (Дильман, Берштейн, 1968; Liddle и др., 1965; Landon, Greenwood, 1967), но и при обычных формах рака легкого (Werk и др., 1963; Lichter, Sirett, 1968).

Наиболее трудно объяснить слабое тормозящее действие нормальной сыворотки крови человека на естественный метаморфоз головастиков. Возможно, что, проникая через рот, кожные и слизистые покровы головастиков, сыворотка способна оказывать влияние на протекание метаболических процессов в организме подопытных животных, в том числе на эффект эндогенного тироксина. Однако этот вопрос так же, как и ряд других (непосредственное влияние самой опухолевой ткани или ее экстрактов на метаморфоз и т. п.), безусловно, нуждается в дальнейшем изучении.

Хотя представленные в работе данные имеют главным образом академический интерес и о каком бы то ни было диагностическом применении теста говорить еще преждевременно, в будущем он, по нашему мнению, может быть использован для полукличественного определения тироксин-связывающей способности сыворотки и обнаружения, пока в значительной мере гипотетических, антитиреоидных субстанций, вырабатываемых опухолями. Интерес представила бы и попытка изучить влияние на метаморфоз головастиков сыворотки крови больных с подтвержденным диагнозом «АКТГ-эктопического» эндокринного синдрома. Возможно, что более оптимальный подбор условий эксперимента (главным образом количества сыворотки и характера ее иммерсии, т. е. введения ее в воду аквариума (Henriques, 1967)) в конце концов приведет к желаемым результатам.

Автор искренне благодарит профессора И. Сибуля за предоставление стандартного препарата тироксина для исследования.

ЛИТЕРАТУРА

- Архипенко В. И., 1965. Состояние щитовидной железы и систем ее регуляции при росте злокачественных опухолей. Автореф. докт. дисс. Харьков.
- Архипенко В. И., 1967. Состояние щитовидной железы в эксперименте и клинике при опухолевом процессе. Пробл. эндокринолог. **13** (1) : 74.
- Бляхер Л. Я., 1928. Тр. лаб. exper. биол. Москов. зоопарка **4** : 125 (цит. по Войткевич А. А., 1945).
- Войткевич А. А., 1945. Биологическая активность щитовидной железы и передней доли гипофиза. Физиол. ж., **31** : 332.
- Дастюг Г., Сукиер Ж., 1949. Личинки амфибий как биологические реагенты. М.
- Дильман В. М., Берштейн Л. М., 1968. Эктопические эндокринные синдромы. *Вопр. онкологии* **14** (11) : 111.
- Кабак Я. М., 1945. Практикум по эндокринологии. М.
- Скебельская Ю. Б., 1957. О роли надпочечников в реакции щитовидной железы на АКТГ. *Пробл. эндокринолог.* **3** (6) : 32.
- Терентьев П. В., 1950. Лягушка. М.
- Claus-Walker J., 1967. Hypothyroidism induced by a transplanted fibrosarcoma in the rat. *Acta endocrinol. (Kbh.)* **55** : 522.
- Galton V. A., Ingbar H. S., 1966. Effect of malignant tumor on thyroxine metabolism and thyroid function. *Endocrinology* **79** : 964.
- Halmi N. S., 1952. On the nature of inhibitory action of ACTH on thyroid gland. *Proc. Soc. Exptl Biol. Med.* **80** : 175.
- Henriques U., 1967. A bioassay of thyroid hormone. An experimental study. *Danish Med. Bull.* **14** (Suppl. 1) : 1.
- Landon J., Greenwood F. C., 1967. Cushing's syndrome associated with "corticotrophin"-producing bronchial neoplasm. *Acta endocrinol. (Kbh.)* **56** : 321.
- Lichter J., Sirett N., 1968. Plasma cortisol levels in lung cancer. *Brit. Med. J.* **2** : 154.

- Liddle G., Givens J., Nicholson W., 1965. The ectopic ACTH syndrome. *Cancer Res.* **25** : 1057.
- Medda A. K., Premachandra B. N., 1967. Thyroid immunity and metamorphosis of tadpoles. *Federat. Proc.* **26** : 588.
- Skott K. G., Reilly W. A., Searle G., 1960. I¹³¹ plasma and-thyroid levels in cancer and control patients. *Cancer* **13** : 1261.
- Werk E., Sholiton L., Marnell R., 1963. Further studies of adrenocortical function in patients with carcinoma of the lung. *Amer. J. Med.* **34** : 192.

Институт экспериментальной
и клинической медицины Министерства
здравоохранения Эстонской ССР

Поступила в редакцию
17/IV 1969

LEV BERSTEIN

TERVETE JA KOPSUVÄHKI PÕDEVATE INIMESTE VERESEERUMI TOIME RANA ESCULENTA KULLESTE METAMORFOOSILE

Resümee

Nelja kopsuvähki põdeva ja nelja täiesti terve mehe vereseerumi testimisel ilmnes selle pidurdav toime konna (*Rana esculenta*) loomulikule ja kunstlikule metamorfoosile. Tugevamini mõjutas loomulikku metamorfoosi haigete vereseerum. Peatatakse selle nähtuse võimalikel põhjustel. Oletatakse, et sobivamate tingimuste valikul võib seda testi edaspidi kasutada vereseerumi türoksiinisiduvuse poolkvantitatiivseks määramiseks. Ühtlasi saab sel teel kindlaks teha kasvajate poolt produtseeritavate hüpoteetiliste antitüroidsete substantside esinemist, mis «AKTH ektoopilise» endokriinse sündroomi avastamisel oleks üks diagnostilisi kriteeriume.

ENSV Tervishoiu Ministeeriumi
Eksperimentaalse ja Kliinilise
Meditsiini Instituut

Toimetusse saanud
17. IV 1969

LEV BERSHTEIN

EFFECT OF THE BLOOD SERUM OF HEALTHY PEOPLE AND LUNG CANCER PATIENTS UPON THE METAMORPHOSIS OF THE RANA ESCULENTA TADPOLES

Summary

As a result of testing the blood serum of 4 absolutely healthy and 4 lung cancer-affected men respectively, its inhibitory effect on the natural and artificial metamorphosis of the *Rana esculenta* tadpoles was revealed. The blood serum of the patients gave a more clearly expressed effect in respect to the natural metamorphosis. The possible causes of this phenomenon are discussed. It is supposed that, choosing more suitable conditions, this test might be used in the future for a semiquantitative determination of the thyroxine-binding ability of the blood serum. At the same time, the hypothetic anti-thyroid substances produced by tumours can be ascertained. That would also serve as a diagnostic criterion for discovering the "ACTH ectopic" endocrine syndrome.

Ministry of Health of the Estonian SSR,
Institute of Experimental and
Clinical Medicine

Received
April 17, 1969