

ВЛИЯНИЕ ОЗОНИРОВАННЫХ СРЕД НА ФЕРМЕНТАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ ПРИ ХИМИОТЕРАПИИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Кит О. И., Касьяненко В. Н., Шатова Ю. С., Шихлярова А. И., Марьяновская Г. Я., Барсукова Л. П., Коробейникова Е. П., Резинькова И. А.

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия (344037, Ростов-на-Дону, ул. 14 линия, д.63), e-mail: protasovatp@yandex.ru

Изучали влияние озонирования крови в комплексе с полихимиотерапией на энергетическое состояние лимфоцитов периферической крови женщин с местно-распространённым раком молочной железы. С этой целью тестировали активность сукцинатдегидрогеназы и α -глицерофосфатдегидрогеназы – ключевых ферментов основного энергодающего цикла Кребса, с применением количественной цитохимической методики. Комплексное воздействие проводили 2-мя идентичными курсами с двухнедельным перерывом между ними. Уже первое озонирование привело к снижению уровня метаболического ацидоза, стопроцентное снятие которого произошло к концу проводимого лечения. Показано достоверное увеличение пула лимфоцитов крови с высоким содержанием сукцинатдегидрогеназы к концу каждого курса лечения. Таким образом, озонирование крови способствует преодолению гипоксического состояния и стимуляцию кислородзависимых способов функционирования организма, устранению метаболического ацидоза.

Ключевые слова: озонирование крови, лимфоциты, активность сукцинатдегидрогеназы, активность α -глицерофосфатдегидрогеназы.

THE OZONIZED MEDIA'S EFFECTS ON THE FERMENTATIVE ACTIVITY OF THE BLOOD LYMPHOCYTES UNDER CHEMOTHERAPY OF THE MAMMARY GLAND CANCER

Kit O. I., Kasyanenko V. N., Shatova Y. S., Shikhliarova A. I., Maryanovskaya G. Y., Barsukova L. P., Korobeinikova E. P., Rezinkova I. A.

FGBU Rostov Cancer Research Institute, Ministry of Health of the Russian Federation, Rostov on Don (Rostov naDonu, 14th line, 63), e-mail: protasovatp@yandex.ru

The effects of the blood ozonization, combined with the polychemotherapy, on the energy state of the peripheral blood lymphocytes in women with locally invasive mammary gland cancer, have been researched. For this purpose, the activity of the succinate dehydrogenase and α -glycerophosphate dehydrogenase, being the key ferments of the main energy-providing Krebs cycle, was tested, by using the quantitative cytochemical technique. The complex exposure was held by 2 identical courses with a two-week break between them. The first ozonization led, anyway, to a decrease of level of the metabolic acidosis, whose hundred-per-cent removal occurred by the end of the treatment. There was shown a trustworthy increase of the blood lymphocytes pool with a high content of the succinate dehydrogenase by the end of each course of the treatment. Thus the blood ozonization contributes to overcoming the hypoxic state, to stimulating the oxygen-dependent ways of the organism functioning, and to removing the metabolic acidosis.

Key words: blood ozonization, lymphocytes, activity of the succinate dehydrogenase, activity of the α -glycerophosphate dehydrogenase.

Химиотерапевтическое, состоящее из двух курсов, лечение женщин больных раком молочной железы, стадии IIb – IIIab, включало в себя введение озонированной крови с целью преодоления состояния гипоксии. В лимфоцитах периферической крови для контроля клеточного дыхания была изучена ферментативная активность ключевых дегидрогеназ цикла Кребса: сукцинатдегидрогеназы и альфа-глицерофосфатдегидрогеназы. Использование количественной цитохимической методики позволило выявить реципрокный характер активности фер-

ментов, наличие гипоксии до начала лечения, волнообразное снижение уровня гипоксии в процессе первого курса и стойкую активацию кислородзависимого пути функционирования митохондрий лимфоцитов к концу второго курса.

Введение

Гипоксия, изменяющая энергетическое состояние организма, является фактором опухолевой прогрессии. Состояние энергетики организма онкологических больных определяет, с одной стороны, устойчивость опухолевой ткани к гипоксии, а с другой – ее возможность поддержания гипоксического типа получения энергии в условиях достаточного насыщения ткани кислородом. Это положение логически приводит к двум путям борьбы с опухолью: во-первых, к созданию метаболического ацидоза в перифокальной зоне опухоли; во-вторых, к стимуляции кислород зависимых, энергетически более выгодных способов функционирования организма в целях формирования конкурентных условий между здоровыми и малигнизированными клетками [1,2]. Ранее, на экспериментальной модели канцерогенеза, удалось установить, что в ткани мозга и печени уже на первых неделях после введения канцерогена наблюдаются резкие изменения функционирования основного энергодающего цикла – цикла Кребса [3,7]. Было показано, что в условиях создания ацидоза в перифокальной зоне опухоли онкологических больных состояние энергетики лимфоцитов является адекватным показателем при оценке степени блокирования тканевого дыхания в зоне опухоли [8]. Существующие особенности клеточного дыхания при злокачественном росте обуславливают интерес к применению озонотерапии, как пути стимуляции кислородзависимых механизмов энергообеспечения организма. Считается доказанным бактерицидное, противовоспалительное, иммуностимулирующее действие озонотерапии, что влияет на состояние защитных систем организма. Известно применение обогащенного озоном физиологического раствора, лечебных лекарственных составов, а также крови. На сегодняшний день имеются экспериментальные работы по обоснованию использования озонотерапии в онкологии [5,9,] и ряд работ, посвященных клиническому применению озонотерапии в лечении рака [10]. Однако применение озонотерапии совместно с химиотерапией при комплексном лечении онкологических больных недостаточно изучено и не может полностью ответить на многочисленные вопросы, связанные с необходимостью оптимизации проводимого лечения.

Цель

Целью данного исследования было изучение энергетического состояния лимфоцитов при проведении озонирования крови в комплексе с курсами полихимиотерапии рака молочной железы.

Материалы и методы

В основу исследования легли данные о 13 больных раком молочной железы, стадия IIb-IIIa-b, находившихся на лечении в ФГБУ «РНИОИ» Минздравсоцразвития России. Проведение полихимиотерапии (ПХТ) с озонированием крови осуществлялось двумя идентичными курсами. Введение химиопрепарата (ХП) проводилось в 1-й и 8-й дни курса, а озонирование – четырехкратно во 2-й, 4-й, 6-й и 9-й дни в течение каждого курса: всего четыре введения ХП и восемь процедур озонирования. Тестирование лимфоцитов периферической крови больных по показателям энергетического статуса проводилось поэтапно в течение каждого курса по следующей схеме: 1-й день – забор крови на фоновые исследования и введение ХП; 2-й день – забор крови и введение озонированной крови; 3-й день – забор крови (последствие). Те же этапы в конце курсана 8-й, 9-й, 10-й дни. Второй курс химиотерапии, дополненной озонированием, с аналогичной схемой обследования проводился через две недели.

В качестве показателей энергетического состояния лимфоцитов была изучена активность ключевых дегидрогеназ основного энергодающего цикла организма (цикла Кребса): сукцинатдегидрогеназы (СДГ) и альфа-глицерофосфатдегидрогеназы (α -ГФДГ). Активность ферментов (А) оценивали по среднему количеству гранул формазана в пятидесяти лимфоцитах периферической крови. Окраску мазков крови проводили паранитротетразолиемфиолетовым по Р. П. Нарциссову в модификации Зарецкой Ю. М. [4]. Рассчитывали также индекс активности ($I_{\text{акт}}$), отражающий соотношение популяций лимфоцитов с различной активностью изучаемого фермента: $I_{\text{акт}}=2(a+2b+3v)$, где а-количество лимфоцитов с числом гранул до 10; б-количество лимфоцитов с числом гранул до 20; в-количество лимфоцитов с числом гранул более 20.

Статистическую обработку результатов проводили по t-критерию Стьюдента – Фишера.

Результаты и обсуждение

Частота выявления различий между средними уровнями активности СДГ и α -ГФДГ с доминированием сукцинатзависимого пути энергообеспечения ($\Delta=A_{\text{СДГ}}-A_{\alpha\text{-ГФДГ}}$) лимфоцитов крови больных местно-распространенным раком молочной железы исходно была снижена до 60 % (рис.1), что свидетельствовало о наличии метаболического ацидоза, сопровождающего многие экстремальные физиологические и патологические состояния, в том числе и злокаче-

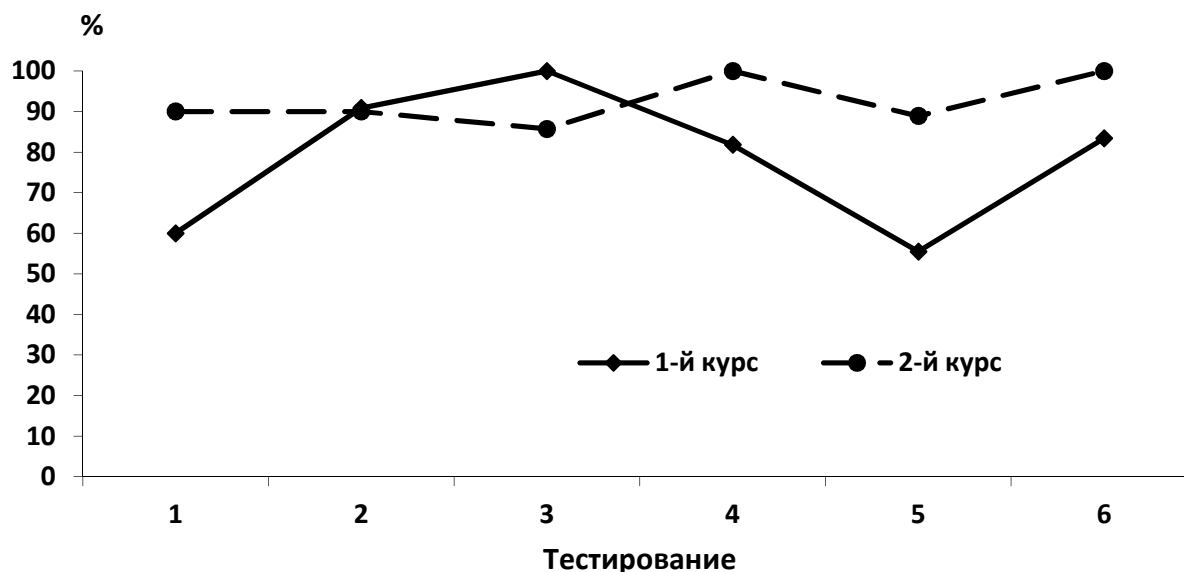


Рис. 1. Динамика преобладания активности СДГ в лимфоцитах периферической крови больных:

- 1 – до начала лечения (фон);
- 2 – после первого введения химиопрепарата;
- 3 – после первого озонирования крови;
- 4 – после третьего озонирования крови;
- 5 – после второго введения химиопрепарата;
- 6 – после четвертого озонирования крови.

Регистрируемое в 40 % случаев преобладание активности α -ГФДГ подтверждало нарушение функций митохондрий иммунокомпетентных клеток и указывало на недостаток снабжения их кислородом, определяющего переход на анаэробный путь энергопродукции. Начатое лечение (химиотерапия и затем введение озонированной крови) привело к росту до 100 % случаев с преобладанием уровня активности СДГ над уровнем активности α -ГФДГ. Дальнейшие этапы лечения характеризовались волнообразным изменением активности обоих ферментов, и в конце 1-го курса количество случаев с преобладающей активностью СДГ было в 4,7 раза больше, чем случаев с преобладающей активностью α -ГФДГ. Индексы активности ($I_{акт}$) изучаемых ферментов также претерпевали волнообразные изменения. Уменьшение степени метаболического ацидоза после начала лечения происходило на фоне снижения $I_{акт\alpha}$ -ГФДГ, сохранявшегося до конца курса. Отмечалось статистически достоверное увеличение $I_{акт}$ СДГ в течение 1-го курса (начало курса – $113,4 \pm 4,4$ у.е.; конец курса – $130,1 \pm 5,7$ у.е.; $p=0,05$). В конце 1-го курса разница $\Delta = I_{акт\ СДГ} - I_{акт\ \alpha\text{-ГФДГ}}$ была в 9,5 раз больше, чем в начале курса, что мы связываем с ростом пула лимфоцитов с повышенной активностью СДГ. В течение двухнедельного перерыва адаптивные процессы в энергетике лимфоцитов продолжались и к

началу 2-го курса преобладание активности Асдг над А_α-ГФДГ тестировалось в 1,5 раза чаще, чем до начала лечения (рис.1).

В течение 2-го курса также происходили колебания активности ферментов, но с меньшей амплитудой, чем в течение 1-го курса, и к концу лечения преобладание активности СДГ отмечалось в 90–100 % случаев. В течение 2-го курса также происходили и колебания индексов активности ферментов. Так, на фоне стабильно сниженного после 1-го курса I_{акт}α-ГФДГ отмечались волнообразные изменения I_{акт} СДГ с достоверным ростом к концу лечения (начало курса – 120±2,2 у.е.; конец курса – 132±3,4 у.е.; p=0,05).

Заключение

Полученные результаты свидетельствуют о положительном влиянии комплексного воздействия, включающего озонирование крови, на аэробную составляющую энергетики лимфоцитов пациентов.

Исследование фонового уровня дегидрогеназлимфоцитов показало, что в процессе развития онкологического заболевания происходит своеобразный возврат к более ранней эволюционной ступени клеточного функционирования: отмечено преобладание анаэробных процессов над аэробными. Результаты исследования активности дегидрогеназлимфоцитов в динамике комплексного лечения выявили, что применение выбранной схемы химиотерапии и озонирования крови приводит к волнообразному процессу адаптации системы дегидрогеназ лимфоцитов периферической крови и, в конечном итоге, при повторном курсе – к стойкой активации аэробной составляющей энергетического состояния лимфоцитов до конца лечения за счет увеличения пула лимфоцитов с повышенной активностью сукцинатдегидрогеназы.

Таким образом, применение озонирования крови в комплексном лечении онкологических больных способствует смягчению метаболического ацидоза и оптимизирует энергетическое состояние иммунокомпетентных клеток крови, как фактора повышения противоопухолевой резистентности организма.

Список литературы

1. Абдрашитова Н. Ф., Белякин Ю. В., Романов Ю. А. Влияние длительного воздействия озона на функциональную активность фагоцитов человека // Бюлл. эксперим. биол. медицины. – 2000. – № 9. – С.333-335.
2. Алехина С. П., Щербатюк Т. Г. Озонотерапия: клинические и экспериментальные аспекты. – Н.Новгород, 2003. – 237 с.
3. Барсукова Л. П., Марьяновская Г. Я., Шихлярова А. И. Возможности коррекции энергетического состояния на ранних этапах канцерогенеза // Системный подход к реабилитации

онкологических больных после комбинированного и комплексного лечения. – М., 2002. – С.103-108.

4. Зарецкая Ю. М. Клиническая иммуногенетика. – М.: Медицина, 1983. – 208 с.
5. Клинцева Е. С. Исследование эффективности озона, 5-фторурацила и доксорубина в терапии экспериментальных опухолей: автореф. дис... канд. биол. наук. – Ст. Купавна, 2007. – 32 с.
6. Маевский Е. И., Розенфельд А. С., Гришина Е. В., Кондрашева М. Н. Коррекция метаболического ацидоза путем поддержания функций митохондрий. – Пущино, 2001. – 156 с.
7. Шихлярова А. И. Роль биотропных параметров электромагнитных полей в повышении неспецифической противоопухолевой резистентности: автореф. дис... д-ра биол. наук. – Ростов-на Дону, 2001. – 50 с.
8. Шихлярова А. И., Владимирова Л. Ю., Абрамова Н. А., Марьяновская Г. Я., Барсукова Л. П. Оценка степени блокирования процессов тканевого дыхания в зоне опухоли молочной железы под действием дифенилгидрамина // Материалы VI съезда онкологов и радиологов стран СНГ. Душанбе, 1–4 окт. 2010. – С. 44.
9. Щербатюк Т. Г. Свободнорадикальные процессы и их коррекция у животных с экспериментальными опухолями: дис... докт. биол. наук. – Н. Новгород, 2003. – 391 с.
10. Ялкупт С. И., Потебня Г. П. Биотерапия опухолей. – Киев: Книга-Плюс, 2010. – 470 с.

Рецензенты:

Николаева Надежда Владимировна, д-р мед. наук, ассистент кафедры онкологии Ростовского государственного медицинского университета, врач-гематолог отделения гематологии ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт», г. Ростов-на-Дону.

Айрапетов Карен Георгиевич, д-р мед. наук, нейрохирург-онколог, руководитель центра нейрохирургии, неврологии и нейрореабилитации КБ №1 ФГБУЗ ЮОНЦ ФМБА России, г. Ростов-на-Дону.