

УДК 616–008:611.4+612.1:616.69–006.6

НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В ЭЛЕМЕНТАХ КОСТНОГО МОЗГА И ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ МЕСТНОРАСПРОСТРАНЕННЫМ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

© 2005 г. *Е.М. Франциянц, Н.В. Николаева*

Phenomena of oxidative stress accompanied by disturbance of structural-functional membrane integrity of cells of peripheral blood and bone marrow are observed in peripheral blood cells and bone marrow formed elements of patients with locally- advanced breast cancer prior to neoadjuvant chemotherapy.

Общеизвестна свободнорадикальная теория развития опухолевого процесса. Перекисное окисление липидов (ПОЛ) является универсальной реакцией повреждения мембран при различных патологических состояниях [1, 2].

Многочисленные исследования показывают, что процессы ПОЛ протекают в клетке непрерывно, поэтому мембранные структуры клетки находятся под постоянной угрозой повреждающего действия этих процессов. Нарушения в системе регуляции процессов перекисидации липидов могут явиться причиной несбалансированного развития реакции ПОЛ. В настоящее время гипотеза об участии процессов ПОЛ и антиоксидантов в патогенезе злокачественных новообразований получила многочисленные клинические и экспериментальные подтверждения [3]. Показано накопление продуктов ПОЛ в сыворотке крови онкологических больных. Также многими авторами было показано изменение перекисного метаболизма клеток крови и лимфы онкологических больных. Костный мозг является источником иммунокомпетентных и кроветворных клеток, что предполагает наличие сходных изменений процессов ПОЛ в клетках-предшественниках зрелых элементов периферической крови. В изученной литературе мы не встретили данных об изучении перекисного метаболизма в костном мозге больных местнораспространенным раком молочной железы, поэтому полученные нами результаты представляют несомненный интерес. При этом мы сочли возможным использовать в качестве сравнительных критериев соответствующие значения в форменных элементах крови здоровых доноров.

Материалы и методы исследования

Материалом для исследования послужили кровь и костный мозг 8 больных местнораспространенным раком молочной железы (РМЖ).

Костный мозг получали при пункции крыла подвздошной кости в объеме 5 мл в пробирку, содержащую раствор гепарина (50 ЕД в 1 мл 0,9 % физиологического раствора) из расчета 1 мл раствора на 3 мл костномозговой

взвеси. Разделение клеток КМ осуществляли в градиенте плотности смесей фиколла и верографина [4]. Раствор фиколла 8 % (Ficoll-400 «Pharmacia», Швеция) готовится на основе забуференного физиологического раствора, содержащего 1 % хлорида кальция и 1 % хлорида магния ($d_1 = 1,03 \text{ г/см}^3$). Растворы смесей фиколла и верографина («Verografin» «Spofa») готовили следующим образом: 50 мл 8 % фиколла смешивали с 11 мл 60 % верографина ($d_2 = 1,09 \text{ г/см}^3$); 50 мл 8 %-го фиколла смешивали с 14,5 мл 60 % верографина ($d_3 = 1,1 \text{ г/см}^3$). Кроветворную ткань ресуспендировали и фильтровали через нейлоновое полотно. Полученную суспензию костномозговых клеток дважды отмывали забуференным охлажденным физиологическим раствором при 3000 г по 5 мин и 1 раз лактозосодержащим раствором при тех же условиях. Затем клетки ресуспендировали в физиологическом растворе. Рабочая концентрация составляла $0,5 \times 10^8$ клеток в 1 мл суспензии. Градиент плотности готовили поочередным наслаиванием растворов: $d_1 = 1,03 \text{ г/см}^3$, $d_2 = 1,09 \text{ г/см}^3$, $d_3 = 1,1 \text{ г/см}^3$ по 3 мл. Клеточную суспензию наносили сверху в объеме 1 мл. Центрифугирование проводили при 500 г 10 мин. В результате проведенных манипуляций клетки разделялись на отдельные слои со значительной концентрацией на границах раздела градиентных растворов: верхний слой формируется лимфоидными элементами; 2-я клеточная фракция представлена клетками эритроидного ряда; 3-я – состоит из клеток миелоидного ряда.

Кровь для исследования брали из локтевой вены утром натощак в объеме 5 мл, помещали в стеклянные пробирки, содержащие раствор гепарина (1000 ЕД в 1 мл) из расчета 75 мкл раствора на каждый мл цельной крови. Выделение из крови популяций лимфоцитов, нейтрофилов и эритроцитов осуществляли в градиенте плотности фиколл-верографин или фиколл-урографин ($\rho = 1,078 \text{ г/л}$). Выделенные клетки дважды отмывали физиологическим раствором. С помощью камеры Горяева определяли концентрацию лимфоцитов в полученной суспензии, физиологическим раствором доводили ее до концентрации 3×10^6 кл/мл. Суспензию эритроцитов готовили следующим образом: в пробирку с 5 мл физиологического раствора вносили 10 мкл осадка эритроцитов и разбавляли до оптической плотности 0,700 ед ($\lambda_{\text{полг}} = 670 \text{ нм}$, КФК-2).

Сначала было проведено изучение метаболических процессов, протекающих в форменных элементах костномозговой взвеси больных раком молочной железы.

Прежде всего отметим, что эритроциты, выделенные из периферической крови и из костномозговой взвеси больных раком молочной железы, по всем исследуемым показателям были идентичны. По-видимому это обусловлено присутствием большого количества крови в костномозговой взвеси. По сравнению с эритроцитами периферической крови здоровых доноров эритроциты больных раком молочной железы характеризовались повышенным накоплением первичных и вторичных продуктов ПОЛ и несостоятельностью обоих звеньев антиокислительной защиты (табл. 1).

В эритроцитах из периферической крови и костномозговой взвеси больных имело место снижение по сравнению со здоровыми донорами содержания SH-групп в среднем на 23 % – общих, на 16 – белковых и на 68 % – низкомолекулярных или небелковых. Это согласуется с данными литературы о снижении содержания SH-групп в крови онкологических больных (Bentler, Gelbart, 1985; Г.Е. Халтурина и соавт., 1987) и об изменении у них структурно-функционального состояния поверхностных компонент мембран эритроцитов (Е.И. Слободянина и соавт., 1984).

Таблица 1

Показатели свободнорадикальных процессов в эритроцитах крови и костномозговой взвеси больных раком молочной железы

Показатель	Показатель в крови здоровых доноров	Показатель у больных раком молочной железы	
		Периферическая кровь	Костномозговая взвесь
СОД, ед. акт./мл	171,5 ± 1,3	144,1 ± 3,4 ¹	142,1 ± 6,3 ¹
Каталаза, нмоль/мл	2172 ± 15,1	2793 ± 99,6 ¹	2583 ± 135,0 ¹
СОД / катал., ×10	0,8 ± 0,01	0,5 ± 0,02 ¹	0,5 ± 0,01
Витамин Е, ед./мл	3,1 ± 0,1	1,0 ± 0,06 ¹	0,9 ± 0,08 ¹
Витамин А, ед./мл	0,97 ± 0,06	0,43 ± 0,03 ¹	0,4 ± 0,05 ¹
Вит.Е / вит.А	3,2 ± 0,2	2,3 ± 0,03 ¹	2,3 ± 0,03 ¹
SH-группы общие, мкмоль/мл	32,1 ± 1,4	24,0 ± 0,6 ¹	23,7 ± 0,96 ¹
SH-группы небелковые, мкмоль/мл	5,7 ± 0,15	1,8 ± 0,18 ¹	1,5 ± 0,2 ¹
SH-группы белковые, мкмоль/мл	26,4 ± 1,4	22,1 ± 0,8 ¹	22,2 ± 1,2 ¹
МДА, нмоль/мл	7,2 ± 0,3	8,7 ± 0,4 ¹	9,2 ± 0,3 ¹
ДК, мкмоль/мл	2,8 ± 0,3	17,5 ± 1,8 ¹	14,2 ± 1,6 ¹

Примечание. ¹ – достоверно по отношению к значениям у здоровых доноров.

Содержание диеновых конъюгатов и малонового диальдегида в мембранах эритроцитов больных было в среднем в 5,7 раза (на 23 %) выше, чем у здоровых доноров, что также согласуется с данными литературы об увеличении этого показателя в крови онкологических больных (Е.М. Франциянц и соавт., 1997).

Вместе с тем обеспеченность мембран эритроцитов витаминами Е и А в крови и костномозговой взвеси больных до начала лечения была сниженной в 3 и 2 раза соответственно по сравнению с показателями в крови здоровых доноров. Активность каталазы в эритроцитах больных превышала значения у здоровых доноров в среднем на 23 %, а активность СОД была снижена на 16. Известно, что эффективность каскада антиокислительных ферментов зависит не столько от активности отдельных его звеньев, сколько от их взаимоотношения. Коэффициент соотношения

СОД/каталаза в эритроцитах больных был в 1,6 раза ниже, чем в эритроцитах здоровых доноров.

В лимфоцитах периферической крови и костномозговой взвеси больных раком молочной железы найдено снижение активности СОД в 5,2 и 4,3 раза соответственно. СПА была повышена в 1,8 и 18,5 раза, соответственно, по сравнению с показателем в лимфоцитах из периферической крови здоровых доноров. Это приводило к достоверному изменению по сравнению с контрольными величинами коэффициента соотношения СОД/СПА, характеризующего работу естественного каскада антиокислительных ферментов. До начала лечения он был снижен в лимфоцитах периферической крови больных в 10 раз по сравнению с показателями у здоровых доноров, а в лимфоидных элементах костномозговой взвеси в 90 раз. Активность каталазы по сравнению с лимфоцитами здоровых лиц была снижена в лимфоцитах периферической крови больных в 2 раза, а в лимфоцитах, выделенных из костномозговой взвеси – в 3 раза. При этом коэффициент соотношения СОД / каталаза был одинаково в 2 раза снижен в обоих изучаемых образцах лимфоцитов больных.

В лимфоидной фракции, выделенной из костномозговой взвеси и периферической крови больных раком молочной железы, отмечалась очень низкая, по сравнению с лимфоцитами крови здоровых доноров, концентрация витаминов Е и А. Так, уровень содержания витаминов Е и А в лимфоцитах периферической крови больных был в 4,8 и 5,6 раза, а в лимфоцитах костномозговой взвеси – в 7,9 и 4,7 раза ниже. Это способствовало снижению в среднем в 2 раза коэффициента соотношения витаминов Е и А в лимфоцитах как периферической крови, так и костномозговой взвеси и указывало на то, что способность мембран лимфоцитов периферической крови больных к окислению была повышенной. В целом такое состояние антиокислительных процессов в лимфоцитах свидетельствовало о достаточно глубоких нарушениях в обоих звеньях антиперекисной защиты, способствующих изменению структурно-функциональной целостности их мембран. В настоящее время свободнорадикальные процессы в лимфоцитах рассматривают как показатель взаимозависимых регуляторных соотношений с функциональной и фенотипической ориентацией иммунокомпетентных клеток [5, 6].

Показатели активности ферментативного и неферментативного звеньев антиокислительной защиты миелоцитов, выделенных из костномозговой взвеси больных раком молочной железы, были близки по своим значениям к лимфоидным элементам костномозговой взвеси (табл. 2).

В нейтрофилах периферической крови больных раком молочной железы до начала лечения найдено снижение активности СОД по сравнению со здоровыми донорами в 1,9 раза (табл. 2). СПА, напротив, была повышена в 15,8 раза. При этом коэффициент соотношения СОД/СПА естественно был снижен в 24,3 раза, что свидетельствовало о нарушении работы естественного каскада антиокислительных ферментов. Также как и в

лимфоцитах активность каталазы была снижена в 4,1 раза, а коэффициент СОД/каталаза – в 2 раза по сравнению с показателями у здоровых лиц. Содержание витаминов Е и А в нейтрофилах было ниже контрольных значений в 4,2 и 2,5 раза соответственно. В этой связи величина коэффициента Е/А в нейтрофилах крови до лечения была в 1,6 раза ниже нормальных значений. В целом в нейтрофилах крови больных раком молочной железы отмечалось нарушение баланса в системе антиоксидантов, что могло обуславливать функциональную несостоятельность этих клеток, так как именно для них важна четкая слаженность и последовательность реакций образования и утилизации активных форм кислорода.

Таблица 2

Показатели антиокислительной защиты в форменных элементах крови и костномозговой взвеси больных раком молочной железы

Показатель	Показатель в крови здоровых доноров		Показатель у больных раком молочной железы			
			Периферическая кровь		Костномозговая взвесь	
	Лимфоциты	Нейтрофилы	Лимфоциты	Нейтрофилы	Лимфоциты	Миелоциты
СОД, ед. акт./мг белка	$2,6 \pm 0,3$	$2,9 \pm 0,3$	$0,5 \pm 0,07^1$	$1,5 \pm 0,2^1$	$0,6 \pm 0,07^1$	$0,9 \pm 0,05$
СПА, ед. акт./мг белка	$0,28 \pm 0,03$	$0,36 \pm 0,07$	$0,5 \pm 0,04^1$	$5,7 \pm 0,4^1$	$5,2 \pm 0,3^{1,2}$	$4,1 \pm 0,3$
Каталаза, нмоль/мг белка	$11,9 \pm 1,2$	$14,2 \pm 2,9$	$5,6 \pm 0,8^1$	$3,4 \pm 0,8^1$	$4,1 \pm 0,5^{1,2}$	$5,9 \pm 0,7$
Коэффициент, СОД/СПА	$9,1 \pm 1,0$	$7,3 \pm 0,9$	$0,9 \pm 0,04^1$	$0,3 \pm 0,3^1$	$0,1 \pm 0,03^{1,2}$	$0,2 \pm 0,02$
Коэф. СОД/катал.	$0,2 \pm 0,01$	$0,2 \pm 0,02$	$0,1 \pm 0,01^1$	$0,1 \pm 0,01^1$	$0,1 \pm 0,02^1$	$0,4 \pm 0,02$
Витамин Е, ед./мг белка	$38,3 \pm 2,7$	$27,8 \pm 0,7$	$3,2 \pm 0,4^1$	$6,8 \pm 1,0^1$	$4,8 \pm 0,7^{1,2}$	$3,4 \pm 0,2$
Витамин А, ед./мг белка	$8,4 \pm 0,2$	$6,2 \pm 0,4$	$1,5 \pm 0,1^1$	$3,0 \pm 0,3^1$	$1,8 \pm 0,4^{1,2}$	$1,5 \pm 0,3$
Витамин Е/витамин А	$4,6 \pm 0,4$	$4,0 \pm 0,4$	$2,1 \pm 0,3^1$	$2,5 \pm 0,2^1$	$2,4 \pm 0,3^1$	$2,1 \pm 0,2$

Примечание. ¹ – достоверно по отношению к значениям у здоровых доноров; ² – достоверно по отношению к значениям в крови больных.

Полученные результаты указывают на наличие в организме больных местнораспространенным раком молочной железы оксидативного стресса, сопровождаемого нарушением структурно-функциональной целостности мембран форменных элементов крови. В клетках костного мозга, особенно в лимфоидной фракции, также отмечается выраженный дисбаланс в ферментативной и неферментативной антиокислительных системах, что указывает на нарушение утилизации активных форм кислорода и структурной организации клеточных мембран на уровне клеток-предшественников и, возможно, является одной из причин более глубоких функцио-

нальных изменений именно иммунокомпетентных клеток периферической крови.

Литература

1. Барабой В.А., Бездубная Л.К. // Эксперим. онкология. 1992. Т. 14. № 1. С. 40–43.
2. Cerutti P.A., Trump B.F., Schmidt B. // Cancer cells. 1991. Vol. 3. № 1. P. 1–7.
3. Лю Б.Н. Старение, возрастные патологии и канцерогенез (кислородно-перекисная концепция). Алматы, 2003.
4. Сибирная Н.А., Сухомлинов Б.Ф., Хмиль М.В. // Лаб. дело. 1994. № 4. С. 24–25.
5. Афонина Г.Б. и др. // Свободнорадикальные процессы: экологические, фармакологические и клинические аспекты: Тез. докл. межд. конф., 8–10 сентября 1999 г. Санкт-Петербург. СПб., 1999. С. 766.
6. Русин Е.В. и др. // Биоантиоксидант: Материалы межд. симп. в рамках междунар. выставки Медицина и охрана здоровья. Медтехника и Аптека (16–19 сентября). Тюмень, 1997. С. 116–118.

*Ростовский научно-исследовательский
онкологический институт МЗ РФ*

6 июня 2005 г.

УДК 612.014.426:616.24-006.6

КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОЙ МАГНИТОТЕРАПИИ НА ЦНС ПРИ РАКЕ ЛЕГКОГО

© 2005 г. С.Г. Чилингаряни, О.В. Тарнопольская

Postoperative magnitotherapy on CNS of lung cancer reduces the total number of postoperative complications and the rate of distant metastasing at st. I of the disease, increases the 3-year survival of patients with tumour process st. I.

Экспериментальными исследованиями и клиническими наблюдениями установлено, что оперативное удаление злокачественной опухоли может вызывать стимуляцию процесса метастазирования [1–3]. В основе этого феномена лежит ряд механизмов и в их числе стрессорные реакции, возникающие при удалении первичного опухолевого очага [4, 5].

Коррекция механизмов, лежащих в основе патологической стрессорной реакции, может предотвратить стимуляцию метастазирования и улучшить результаты хирургического лечения онкологических больных.

В экспериментальной онкологии установлен феномен антистрессорного влияния слабого низкочастотного магнитного поля (СНЧ МП). При действии переменного магнитного поля (ПеМП) на организм «центральной