

УДК 616.233-018.7:615.849.19

И.В. Кондакова, О.В. Черемисина, Г.В. Загребельная

## ВЛИЯНИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА АНТИОКСИДАНТНУЮ ЗАЩИТУ И СВОБОДНО-РАДИКАЛЬНОЕ ОКИСЛЕНИЕ У БОЛЬНЫХ ДИСПЛАСТИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ БРОНХИАЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ

ГУ НИИ онкологии ТНЦ СО РАМН

Исследовались интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) и содержание антиоксидантов в сыворотке крови у больных хроническими неспецифическими заболеваниями лёгких с дисплазией бронхиального эпителия I и II ст. до и после коррекции лазерным излучением. Показано, что развитие диспластических изменений в эпителии бронхов приводит к существенному снижению содержания антиоксидантных витаминов А и Е, тогда как достоверных изменений в уровне ПОЛ не наблюдалось. Использование как внутрисосудистого, так и эндоскопического низкоинтенсивных лазерных излучений приводит к обратимости диспластических изменений в эпителии бронхов. Внутривенная лазеротерапия приводила к увеличению содержания витамина А и мочевой кислоты в сыворотке крови больных хроническими неспецифическими заболеваниями лёгких с дисплазией как I, так и II ст. Эндоскопическое лазерное лечение не влияло на системный уровень антиоксидантов.

**Ключевые слова:** лазерное излучение, дисплазия бронхиального эпителия, антиоксидантная защита, свободно-радикальное окисление

Таблица 1

**Активность перекисного окисления липидов в сыворотке крови больных хроническими неспецифическими заболеваниями лёгких с дисплазией I и II степени до и после коррекции (M±m)**

| Показатели | Группы больных  |           |            |          |                  |          |          |          |
|------------|-----------------|-----------|------------|----------|------------------|----------|----------|----------|
|            | Дисплазия I ст. |           |            |          | Дисплазия II ст. |          |          |          |
|            | контроль        | энд.      | в/в        | имм.     | контроль         | энд.     | в/в      | имм.     |
| МДА сп.    | 3,67±1,2        | 2,01±0,7* | 2,79±0,37* | 3,75±1,8 | 3,1±0,5          | 3,6±0,5* | 2,6±0,6* | 3,5±0,9* |
| МДА инд.   | 4,08±1,17       | 2,25±0,4* | 3,4±0,84*  | 4,2±0,92 | 4,16±0,86        | 3,95±0,7 | 3,5±0,8* | 4,2±1,02 |

Примечание. \* – статистически значимые различия по сравнению с контролем (p<0,05)  
(энд. – эндоскопическая лазеротерапия, в/в – внутривенная лазеротерапия, имм. – иммунотерапия).

Таблица 2

**Содержание антиоксидантов в сыворотке крови больных хроническими неспецифическими заболеваниями лёгких с дисплазией II степени до и после коррекции (M±m)**

| Показатели | Группы больных  |           |           |           |                  |           |           |           |
|------------|-----------------|-----------|-----------|-----------|------------------|-----------|-----------|-----------|
|            | Дисплазия I ст. |           |           |           | Дисплазия II ст. |           |           |           |
|            | контроль        | энд.      | в/в       | имм.      | контроль         | энд.      | в/в       | имм.      |
| Вит. А     | 2,86± 0,5       | 2,35± 0,7 | 2,98±1,3* | 3,2± 0,5  | 1,66± 0,8        | 3,2±0,5   | 2,2±0,5*  | 2,7±0,7*  |
| Вит. Е     | 22± 4,4         | 20,5± 3,7 | 22,4± 2,9 | 19,3± 2,9 | 19,5± 3,2        | 19,7± 2,3 | 18,7±1,7* | 19,6± 2,7 |
| МК         | 300± 39         | 313±35,2  | 399±89*   | 293± 52   | 289± 38          | 192±10,8  | 304±16,8* | 353± 86   |

Примечание. \* – статистически значимые различия по сравнению с контролем (p<0,05)  
(энд. – эндоскопическая лазеротерапия, в/в – внутривенная лазеротерапия, имм. – иммунотерапия).

В настоящее время рак лёгкого продолжает прочно удерживать первое место в структуре онкологической заболеваемости и смертности как в нашей стране, так и в большинстве индустриально развитых стран мира. Успешное лечение этой патологии возможно лишь на ранних стадиях процесса. Однако, несмотря на применение

современных инструментальных, морфологических и лабораторных методов, лишь у 10–20% больных опухоль диагностируется в операбельной стадии; соответственно, ежегодная смертность от рака лёгкого в мире в целом составляет около 1 миллиона человек [2, 11]. Не вызывает сомнений необходимость разработки методов

первичной и вторичной профилактики рака лёгкого, которых до настоящего времени практически не существовало. Важную роль в развитии опухолевого процесса в бронхиальном эпителии могут играть диспластические изменения, часто сопровождающие хронический воспалительный процесс [3, 8, 9].

Известно, что в патогенезе злокачественной трансформации важную роль играет свободно-радикальное воздействие на клетки [17]. Такие этиологические факторы, как курение [18], вредные производства и др. приводят к образованию активных радикалов, обладающих генотоксическим эффектом и способствующих малигнизации эпителия бронхов и лёгкого [1, 7]. Повышенная продукция активированных кислородных метаболитов макрофагами и нейтрофилами при хроническом воспалении бронхов также может привести к развитию бронхолегочной дисплазии с последующей злокачественной трансформацией [12]. Показано существование взаимосвязи между сниженной активностью антиоксидантных ферментов и повышенным уровнем повреждений ДНК в ткани рака лёгкого, что даёт основание предполагать протекание свободно-радикальных реакций на высоком уровне в малигнизированных клетках лёгкого *in vivo* [15]. Однако выраженность и направленность изменений антиоксидантной системы и активности свободно-радикального окисления при хронических заболеваниях лёгких с диспластическими изменениями изучено недостаточно.

Определённый интерес для предупреждения злокачественных новообразований представляет метод лазерной терапии с использованием низкоэнергетических источников облучения. При исследовании механизмов его биологического и терапевтического действия было показано нормализующее влияние на перекисное окисление липидов (ПОЛ) и антиоксидантную защиту [4, 5]. В связи с этим в настоящей работе мы исследовали интенсивность ПОЛ и содержание антиоксидантов в сыворотке крови у больных хроническими неспецифическими заболеваниями лёгких с дисплазией бронхиального эпителия I и II ст. до и после коррекции лазерным излучением.

**Методика.** В исследование включены 68 пациентов с морфологически подтверждённым диагнозом дисплазии бронхиального эпителия; из них мужчин – 64, женщин – 14, в возрасте от 31 до 64 лет (в среднем – 47,8). На момент обследования 56 больных являлись активными курильщиками со стажем курения 15–25 лет и более, остальные были пассивными курильщиками либо имели длительный стаж табакокурения в анамнезе. У всех пациентов дисплазия эпителия

трахеобронхиального дерева выявлена на фоне хронического бронхита различной степени выраженности. При фибробронхоскопии определялись признаки атрофического бронхита в 32 случаях (47,1%), смешанного – в 20 (29,4%), пылевого и деформирующего – в 16 (23,5%), сопровождавшиеся дисплазией бронхиального эпителия I ст. у 32 больных (47,1%) и дисплазией II ст. у 36 больных (52,9%). Ранее какого-либо лечения, направленного на коррекцию диспластического процесса, больным в исследуемых группах не проводилось. В схему лечения больных включали внутрисосудистое лазерное облучение крови, эндоскопическую лазеротерапию и иммунотерапию Т-активинном.

В сыворотке крови исследовали уровень антиоксидантных витаминов А и Е и мочевой кислоты (МК), а также продукты ПОЛ – спонтанный и индуцированный малоновые диальдегиды (МДА<sub>сп.</sub> и МДА<sub>инд.</sub>). Витамины А и Е определяли флуориметрическим методом на флуориметре НІТАСНІ-850 (Япония). Для витамина Е длина волны возбуждения была 290 нм и флуоресценции – 320 нм, а для витамина А: 465 нм и 480 нм соответственно. Концентрацию МК определяли ферментативным методом с уриказой и пероксидазой с помощью диагностических наборов фирмы “Cormaу” (Польша). Уровень МДА<sub>сп.</sub> и МДА<sub>инд.</sub> оценивали спектрофотометрически по реакции с тиобарбитуровой кислотой. Результаты исследований обрабатывали статистически с использованием t-критерия Стьюдента.

**Результаты.** Полученные результаты свидетельствуют о том, что достоверных изменений в концентрации МДА<sub>сп.</sub> и МДА<sub>инд.</sub> у больных хроническими неспецифическими заболеваниями лёгких с дисплазией I и II ст. не наблюдалось (табл. 1). Развитие диспластических изменений в эпителии бронхов приводило к существенному снижению содержания антиоксидантных витаминов А и Е (табл. 2). Математический анализ позволяет рассматривать снижение содержания витамина А в сыворотке крови при переходе от дисплазии бронхиального эпителия I ст. к дисплазии II ст. как статистически значимое ( $p < 0,05$ ), что даёт возможность использовать этот показатель как прогностический критерий, свидетельствующий о степени тяжести дисплазии.

Использование как внутрисосудистого, так и эндоскопического низкоинтенсивных лазерных излучений приводило к обратимости диспластических изменений в эпителии бронхов. Эффект иммунотерапии был выражен в меньшей степени. Терапевтический эффект лазеротерапии сопровождался снижением уровня ПОЛ в

сыворотке крови. Обращает на себя внимание снижение уровня МДА<sub>СП</sub> и МДА<sub>ИНД</sub> в сыворотке крови в результате использования как эндоскопической, так и внутрисосудистой лазеротерапии только у больных с дисплазией I ст. При более тяжелой форме дисплазии (II ст.) только внутривенная терапия оказывает статистически значимый антиоксидантный эффект на системном уровне.

Внутривенная лазеротерапия приводила к увеличению содержания витамина А и МК в сыворотке крови больных хроническими неспецифическими заболеваниями лёгких с дисплазией как I, так и II ст. Эндоскопическое лазерное лечение не влияло на системный уровень антиоксидантов. Иммунокорректирующее воздействие Т-активина не приводило к изменениям показателей системы свободно-радикального окисления. Таким образом, внутривенная лазеротерапия обладает наиболее выраженным действием на системные параметры ПОЛ и уровень антиоксидантов сыворотки крови по сравнению с эндоскопической лазеротерапией и иммунотерапией.

В настоящий момент механизмы влияния внутрисосудистого лазерного излучения на процесс мобилизации и выхода витамина А в сыворотку крови не известны. Однако значение этого процесса в лечении дисплазии эпителия бронхов может быть весьма существенным. Известно, что в патогенезе бронхолегочной дисплазии важную роль играет гиперпродукция активных кислородных интермедиатов макрофагами и нейтрофилами, приводящая к хроническому окислительному стрессу [6, 10]. В то же время показано, что развитие диспластических процессов в лёгких сопровождается дефицитом антиоксидантов, главным образом витамина А [19]. Ретинол, поступающий в кровь в результате облучения крови гелий-неоновым лазером, может снижать содержание кислородных радикалов, продуцируемых макрофагами и нейтрофилами лёгких, и способствовать обратимости диспластических изменений.

Увеличение содержания мочевой кислоты в сыворотке крови после внутривенного лазерного облучения, по-видимому, также не является случайным. По данным литературы главным компонентом сывороточной общей антирадикальной активности является мочевая кислота. Она составляет от 35 до 65% от суммарного уровня антиоксидантов [14], и только 10% приходится на токоферол. Кроме того, в отличие от витамина Е МК синтезируется в организме и является эндогенным антиоксидантом, который в процессе эволюционного развития может заменять аскорбат [16]. Ураты взаимодействуют с

10–15% гидроксильных радикалов, генерируемых ежедневно *in vivo*, и могут предохранять от окислительных повреждений ДНК, белки, мембранные липиды и липопротеины [13].

Таким образом, нарушения в системе свободно-радикального окисления и антиоксидантной защиты наблюдаются на стадии предопухолевых заболеваний лёгких. Лазерное облучение является эффективным терапевтическим средством, способствующим регрессии диспластических изменений. Механизм воздействия зависит от способа использования лазерного излучения. Внутривенная лазеротерапия влияет непосред-

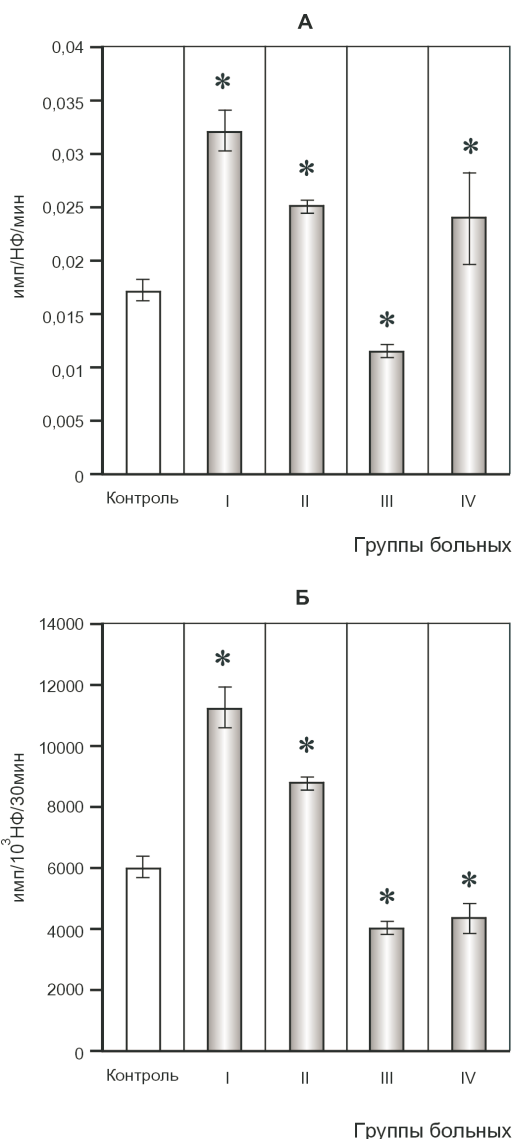


Рис. Показатели спонтанного хемилюминесцентного ответа нейтрофилов крови больных с разной стадией ДК.

А –  $I_{\max}$  число импульсов, испускаемых в течение минуты одним нейтрофилом на пике ХЛ ответа; Б –  $I_{\text{sum}}$  – суммарное количество импульсов, испускаемых  $10^3$  НФ в течение 30 мин регистрации ХЛ ответа. \* –  $p < 0,05$  по сравнению с контролем

Таблица 1

Показатели зимозан-индуцированного ХЛ ответа и индексы стимуляции Нф крови больных с разной стадией деформирующего коксартроза ( $M \pm m$ )

| Группы больных ДОО | n  | I <sub>sum</sub> ХЛ ответ, имп/10 <sup>3</sup> НФ/30 мин |                        | ИС, у.е.    |
|--------------------|----|----------------------------------------------------------|------------------------|-------------|
|                    |    | Спонтанный                                               | Зимозан-индуцированный |             |
| Контроль           | 18 | 6027,9±455,80                                            | 28899,4±1349,60        | 4,8±0,15    |
| I ст.              | 48 | 10997,7±650,60*                                          | 27285,3±2543,50        | 2,49±0,23*  |
| II ст.             | 38 | 8826,13±290,64*                                          | 17991,9±1200,70*       | 2,04±0,12** |
| III ст.            | 35 | 4285,3±178,90*                                           | 8148,9±435,60*         | 1,91±0,10** |
| IV ст.             | 23 | 4330±411,10*                                             | 8203,75±1410,10*       | 1,89±0,20** |

Примечание: n – количество обследованных лиц; \* – p<0,05 по сравнению с контролем; \*\* – p<0,01.

ственно на антиоксиданты сыворотки крови, тогда как действие эндоскопического облучения реализуется на местном уровне. Содержание витамина А в сыворотке крови может отражать эффективность терапевтического лазерного воздействия на организм больного.

#### INFLUENCE OF LOW-ENERGY LASER IRRADIATION ON ANTIOXIDANT DEFENCE AND FREE-RADICAL OXIDATION IN THE PATIENTS WITH DISPLASTIC DISEASES OF BRONCHIAL EPITHELIUM

I.V. Kondakova, O.V. Cheremisina, G.V. Zagrebelnaya

The level of lipid peroxidation and antioxidant content have been studied in serum of The patients with bronchial displasia of I and II grades before and after treatment with the laser irradiation. It has been shown that the spread of displastic alterations in bronchial epithelium causes the significant decrease of antioxidant vitamins A and E whereas the level of lipid peroxidation has not been changed. The using of both intravascular and endoscopic low energy laser irradiation leads to the reduction of displastic alterations in bronchial epithelium. Intravascular laser therapy increases the content of vitamins A and E in serum of the patients with bronchial displasia. Endoscopic laser treatment did not influence on the serum antioxidant level.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Заридзе Д.Г. // Архив патологии. 2002. Т. 64. № 2. С. 53–61.

Таблица 2

Параметры фагоцитарной активности Нф периферической крови больных с различной стадией деформирующего коксартроза ( $M \pm m$ )

| Группы обследованных | n  | Показатели фагоцитарной активности Нф |            |
|----------------------|----|---------------------------------------|------------|
|                      |    | ФИ, %                                 | ФЧ, ЕД     |
| Контроль             | 13 | 41,2±51,1                             | 6,75±0,35  |
| I ст.                | 46 | 38,0±1,53                             | 5,33±0,33* |
| II ст.               | 33 | 34,3±0,78*                            | 5,14±0,34* |
| III ст.              | 35 | 32,2±1,36*                            | 5,0±0,24*  |
| IV ст.               | 23 | 31,25±1,93*                           | 5,25±0,48* |

Примечание: n – количество обследованных лиц; \* – p<0,05 по сравнению с контролем.

2. Злокачественные новообразования в России в 2000 году (заболеваемость и смертность). М., 2002. 264 с.
3. Коган Е.А., Кодолова И.М. // Итоги науки и техники. Пат. анатомия. М., 1989. Т. 7. С. 84–147.
4. Коломиец Л.А., Щепеткин И.А. Механизмы терапевтического действия низкоинтенсивного лазерного излучения // Сибир. мед. журнал. 1996. Т. 11. № 1. С. 49–51.
5. Лапун И.Б. Действие излучения гелий-неонового лазера на перекисное окисление липидов и некоторые сопряжённые реакции организма: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1981. 15 с.
6. Менищикова Е.Б., Зенков Н.К. // Успехи совр. биол. 1997. Т. 117. Вып. 2. С. 155–171.
7. Нормантович В.А. // Русский медицинский журнал. 1998. Т. 6. № 10. С. 634–642.
8. Ольховская И.Г. // Архив патологии. 1985. Т. 42. № 11. С. 20–24.
9. Петрова А.С., Корякина Р.Ф., Лукина Т.А., Соколова В.К. // Там же. 1985. Т. 47. № 11. С. 3–6.
10. Полосухин В.В., Егунова С.М., Чувакин С.Г. Морфогенетические эффекты применения лазерного излучения в лечении острого и хронического воспаления бронхов. Новосибирск, 1993. 157 с.
11. Стилиди И.С., Тер-Ованесов М.Д. // Практическая онкология. 2000. № 3. С. 21–23.
12. Франциянц Е.М. Перекисное окисление липидов в патогенезе опухолевой болезни: Автореф. Дис. ... д-ра биол. наук. Ростов-на-Дону, 1997. 35 с.
13. Ames B.N., Cathcart R., Schwiers E., Hochstein P. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1981. Vol. 78. P. 6858–6862.
14. Frei B., Stocker R., Ames B.N. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1988. Vol. 85. P. 9748–9752.
15. Jaruga P., Zastawny T.H., Skokowski J. // FEBS lett. 1994. Vol. 341. P. 194–199.
16. Sevanian A., Davies K., Hochstein P. // Am. J. Clin. Nutr. 1991. Vol. 54. P. 1129S–1134S.
17. Toyokuni S., Okamoto K., Yodoi J., Hiai H. // FEBS Lett. 1995. Vol. 93. P. 1–3.
18. Weitberg A.B., Corvase D. // J. Exper. Clin. Cancer Res. 1997. Vol. 16. P. 11–14.
19. Wolfson M., Shinwell E.S., Zvillich M. // Clin Exp. Immunol. 1988. Vol. 72. P. 505–509.