

УДК 616.9-097.036

O. S. Yanchenko¹, K. N. Kontorshikova¹, V. V. Novikov², A. Yu. Baryshnikov³

INFLUENCE OF OZONOTHERAPY ON LYMPHOCYTES SUBPOPULATIONS AT ENDOMETRIAL CANCER AND UTERINE MYOMA

*¹Medical Academy of Nizhny Novgorod**²Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod**³N. N. Blokhin Russian Cancer Research Center RAMS, Moscow***ABSTRACT**

The intravenous infusion of ozonated physiologic solution to patients with endometrial cancer during complex standard therapy resulted in elevation of life quality and normalization of increased level of CD16⁺ peripheral blood cells. At uterine myoma the therapy by ozonated physiologic solution during complex standard therapy was associated with normalization of elevated level of CD8⁺ and CD20⁺ peripheral blood lymphocytes. Probably, in patients with endometrial cancer and uterine myoma the positive effect of ozonotherapy connects with normalization of different immune cells subpopulations.

Key words: uterine myoma, endometrial cancer, CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD16⁺, CD20⁺ cells, ozonotherapy.

O. C. Янченко¹, К. Н. Конторицкова¹, В. В. Новиков², А. Ю. Барышников³

ВОЗДЕЙСТВИЕ ОЗОНОТЕРАПИИ НА ПОПУЛЯЦИОННЫЙ СОСТАВ ЛИМФОЦИТОВ ПРИ РАКЕ ТЕЛА МАТКИ И МИОМЕ МАТКИ

*¹Нижегородская государственная медицинская академия**²ННГУ им. Н. И. Лобачевского, Нижний Новгород**³ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва***РЕЗЮМЕ**

Введение озонированного физиологического раствора пациентам с раком тела матки на фоне стандартной комплексной терапии наряду с повышением качества жизни больных приводило к нормализации повышенного уровня CD16⁺-клеток периферической крови. При использовании озонотерапии на фоне стандартного комплексного лечения пациентов с миомой матки происходила нормализация повышенного относительного содержания CD8⁺- и CD20⁺-лимфоцитов периферической крови. Вероятно, положительный эффект применения озонотерапии у онкогинекологических больных связан с его иммунокорректирующим действием, выражающимся в нормализации уровня различных при раке тела матки и миоме матки популяций иммунокомпетентных клеток.

Ключевые слова: миома матки, рак тела матки, CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD16⁺, CD20⁺-клетки, озонотерапия.

ВВЕДЕНИЕ

Доброкачественные и злокачественные опухоли матки и придатков – одна из наиболее часто встречающихся патологий у женщин разных возрастных групп. В комбинированной терапии больных проводится хирургическое лечение с последующим назначением гормоно-, полихимио- или лучевой терапии. Известно, что данные методы имеют целый ряд выраженных побочных эффектов: общетоксическое влия-

ние на организм больной, иммунодепрессивное действие, нарушение баланса про- и антиоксидантных систем организма [3; 5].

В связи с этим представляется важным включение в комплексное ведение послеоперационных больных дополнительных методов лечения, уменьшающих степень интоксикации, корректирующих уровень антиоксидантной защиты, нормализующих состояние перекисного окисления липидов, модулирующих имму-

нологическую реактивность организма. Одним из таких методов является озонотерапия, положительный эффект применения которой отмечен при широком спектре заболеваний, в том числе онкологических [1; 4; 5; 6; 7].

Значительную роль в поддержании гомеостатического равновесия организма играют молекулярные и клеточные механизмы иммунных реакций. Для эффективной элиминации опухолевых клеток и восстановления гомеостатических функций организма необходима адекватная и полноценная работа иммунной системы [8; 9]. Наличие или отсутствие изменений в популяционном составе клеток иммунной системы могут определять целесообразность иммунокорректирующей терапии [7; 10].

Целью настоящей работы явилось исследование действия медицинского озона на особенности популяционного состава лимфоцитов больных с доброкачественной и злокачественной патологией внутренних женских половых органов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использованы образцы гепаринизированной крови 58 женщин с диагнозом «рака эндометрия» и 42 женщин с миомой матки. Больные находились на лечении в гинекологической клинике Областной клинической больницы им. Семашко г. Нижнего Новгорода.

26 больных раком тела матки и 22 пациентки с миомой матки получали стандартное комплексное лечение без применения озонотерапии. 32 больных раком тела матки и 20 пациенток с миомой матки наряду с комплексной терапией получали озонированный физиологический раствор внутривенно в количестве 200 мл (концентрация озона – 400 мкг/л, 6 процедур через день). Концентрация озона, количество и кратность процедур разработаны и подтверждены как эффективные и безопасные в ранее проводимых исследованиях [1; 4; 6]. Для озонирования физиологического раствора использовался озонатор фирмы «Медозонс».

Иммунофенотип лимфоцитов определяли с помощью моноклональных антител против CD3, CD4, CD8, CD16 и CD20-антигенов в реакции непрямой иммунофлюоресценции [2]. Мононуклеарные клетки крови выделяли в градиенте фиколл-верографина, а затем трижды отмывали средой 199. На обезжиренное предметное стекло, предварительно покрытое парафином (American Can Company) с круглыми перфорациями наносили поли-L-лизин (Serva) в концентрации 50 мкг/мл. Предметное стекло инкубировали 30 мин при температуре 37 °C и отмывали физиологическим раствором, забуференным фосфатами, pH 7,4. Суспензию клеток в концентрации 2×10^6 кл/мл вносили в лунки предметного стекла, выдерживали 30 мин при 37 °C во влажной камере. Затем не прикрепившиеся к стеклу клетки удаляли и наносили в лунки раствор моноклональных антител. В контрольных образцах клетки обрабатывали физиологическим раствором. Инкубировали стекла при 37 °C в течение 30

мин, 5-кратно отмывали, как указано выше, и на клетки наслаивали раствор ФИТЦ-меченных фрагментов поликлональных антител против мышинных иммуноглобулинов с последующей инкубацией на льду в течение 30 мин и 5-кратным отмыванием. Клетки заливали 50%-ным глицерином в физиологическом растворе и закрывали предметными стеклами.

Препараты просматривали с помощью люминесцентного микроскопа ЛЮМАМ-И2. Учитывали свечение лимфоцитов при увеличении объектива $\times 40$ –100, окуляра $\times 2,5$ –10. Люминесценцию клеточной поверхности регистрировали визуально. В препарате просчитывали 200–300 клеток. Учитывалось общее количество клеток и антиген-положительных клеток. Затем подсчитывалось относительное содержание антиген-положительных клеток. Статистическую обработку данных проводили с использованием критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При исследовании популяционного состава лимфоцитов у больных раком тела матки было выявлено, что наличие опухолевого процесса сопровождалось снижением относительного содержания CD3⁺-лимфоцитов (Т-лимфоциты). Как комплексная терапия, так и терапия, дополненная применением озонированного физраствора, не приводили к нормализации относительного содержания CD3⁺-лимфоцитов. Количество CD4⁺- и CD8⁺-лимфоцитов при раке тела матки оставалось в пределах нормы как до терапии, так и после комплексной терапии. Включение в схему лечения озонированного физраствора также не изменяло процентного содержания CD4⁺- и CD8⁺-лимфоцитов в периферической крови больных (табл. 1).

Обнаружено статистически достоверное повышение относительного содержания CD16⁺-клеток периферической крови больных раком тела матки, которое было увеличено до терапии в 2,3 раза. Последующее комплексное лечение с применением озонотерапии нормализовало содержание CD16⁺-клеток. В отсутствии озонотерапии статистически достоверных изменений процентного содержания CD16⁺-клеток выявлено не было. Оно оставалось выше нормы и не имело статистически достоверных различий с уровнем CD16⁺-клеток у нелеченных больных. Таким образом, озонотерапия, проводимая на фоне стандартного комплексного лечения больных раком тела матки, сопровождалась нормализацией уровня CD16⁺-клеток.

Наряду с повышением относительного содержания CD16⁺-клеток обнаружено повышение процентного содержания CD20⁺-лимфоцитов. У нелеченных больных оно было статистически достоверно выше нормы в 1,9 раза. Терапия как с применением озонированного физраствора, так и без него сопровождалась лишь статистически недостоверной тенденцией к росту уровня CD20⁺-лимфоцитов. Можно заключить, что озонотерапия больных раком тела матки на фоне комбинированного лечения сопровождалась нормали-

Таблица 1

Изменение иммунофенотипа клеток периферической крови у больных раком тела матки

Популяция клеток, %	Норма	Комплексная терапия, дополненная озонотерапией		Комплексная терапия	
		До терапии	После терапии	До терапии	После терапии
CD3 ⁺	72,0±7,0	50,4±2,2*	53,5±2,9*	55,4±2,9*	51,7±2,6*
CD4 ⁺	39,0±5,0	43,5±3,1	43,6±3,4	45,5±3,8	44,2±3,7
CD8 ⁺	23,0±4,0	24,6±2,3	22,8±1,9	22,1±2,4	19,6±2,1
CD16 ⁺	12,0±6,0	27,1±1,6*	20,2±2,5**	28,2±1,9*	24,3±2,2*
CD20 ⁺	12,0±3,0	22,3±2,5*	27,8±2,8*	23,5±2,9*	27,5±2,6*

*Различия достоверны в сравнении с нормой (p<0,05);
 **Статистически достоверные различия до и после терапии (p<0,05)

зацией уровня CD16⁺-клеток на фоне неизменного содержания других популяций клеток.

Относительное количество CD3⁺-клеток в периферической крови пациенток с миомой матки было статистически достоверно снижено до того же уровня, который был зарегистрирован для больных раком тела матки. Как до терапии, так и после комплексной терапии с применением озонированного физраствора и без его применения оно было в 1,5 раза меньше, чем в норме. Относительное содержание CD4⁺-клеток не отличалось от нормы как до лечения, так и после комплексной терапии. Озонированный физраствор не оказывал влияния на уровень Т-хелперов (табл. 2). В отличие от них относительное содержание CD8⁺-лимфоцитов в периферической крови пациенток до начала комплексной терапии было статистически достоверно выше нормы. Комплексное лечение с применением курса озонотерапии приводило к падению

уровня CD8⁺-лимфоцитов до нормы. При этом различия в относительном содержании CD8⁺-лимфоцитов до и после терапии были статистически значимы. При стандартной комплексной терапии таких различий выявлено не было.

Содержание CD16⁺-клеток в периферической крови больных миомой матки было статистически достоверно повышено в 1,7 раза в сравнении со здоровыми женщинами. Заметим, что увеличение уровня CD16⁺-клеток оказалось менее выраженным в сравнении с больными раком тела матки. Различия между уровнем CD16⁺-клеток у больных миомой матки и раком шейки матки были статистически значимы (p<0,05). Стандартная комплексная терапия пациенток с миомой матки не вызывала нормализации уровня CD16⁺-клеток. Наоборот, была зарегистрирована тенденция к росту этой популяции клеток. Дополнение стандартной терапии озонотерапией также не приводило к ста-

Таблица 2

Изменение иммунофенотипа клеток периферической крови у пациенток с миомой матки

Популяция клеток, %	Норма	Комплексная терапия, дополненная озонотерапией		Комплексная терапия	
		До терапии	После терапии	До терапии	После терапии
CD3 ⁺	72,0±7,0	50,2±2,6*	50,6±2,7*	48,2±2,8*	48,6±2,4*
CD4 ⁺	39,0±5,0	41,5±3,4	40,8±3,2	40,4±3,1	40,2±3,1
CD8 ⁺	23,0±4,0	30,2±2,4*	23,2±1,9**	28,2±2,1*	27,6±2,3
CD16 ⁺	12,0±6,0	20,8±1,7*	21,8±2,7*	20,5±1,8*	25±2,1*
CD20 ⁺	12,0±3,0	30,2±2,2*	20,3±2,4***	28,2±2,6*	25,4±2,4*

*Различия достоверны в сравнении с нормой (p<0,05);
 **Статистически достоверные различия до и после терапии (p<0,05)
 ***Статистически достоверные различия до и после терапии (p<0,05)

статистически достоверным изменениям в относительном содержании CD16⁺-клеток.

Более выраженные изменения были зарегистрированы в относительном содержании CD20⁺-лимфоцитов периферической крови пациенток с миомой матки. До начала терапии уровень CD20⁺-лимфоцитов был увеличен в среднем в 2,5 раза. Стандартная комплексная терапия не приводила к статистически значимым изменениям в процентном количестве этих клеток. Однако дополнение стандартной терапии озонотерапией сопровождалось статистически достоверным падением уровня CD20⁺-лимфоцитов в 1,5 раза в сравнении с этим показателем до начала терапии. То есть, у больных миомой матки при использовании озонотерапии на фоне стандартного комплексного лечения была зарегистрирована нормализация относительного содержания цитотоксических CD8⁺-лимфоцитов и CD20⁺-клеток (В-лимфоциты). Необходимо отметить, что у больных раком тела матки применение озонированного физраствора приводило к нормализации другой популяции важных для реализации противоопухолевого иммунитета клеток – CD16⁺, являющихся натуральными киллерами. Можно полагать, что положительный эффект применения озонотерапии у онкогинекологических больных связан с его иммунокорректирующим действием, выражающимся в нормализации уровня различных при раке тела матки и миоме матки популяций иммунокомпетентных клеток.

ВЫВОДЫ

При раке тела матки обнаружена нормализация повышенного уровня CD16⁺-клеток периферической крови при использовании озонотерапии на фоне стандартного комплексного лечения.

Введение озонированного физраствора пациентам с миомой матки, получавшим стандартное комплексное лечение, сопровождалось нормализацией повы-

шенного относительного содержания CD8⁺- и CD20⁺-лимфоцитов периферической крови.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алясова А. В. Клинико-нейрофизиологическая и нейро-иммунологическая характеристика больных раком молочной железы: Дисс. ... д-ра мед. наук. Н. Новгород, 2004. – 338 с.
2. Воробьев В. Г., Новиков В. В., Лебедева А. И. Иммунодиагностика острых лейкозов. – Н. Новгород: НГМА, 1998. – 67 с.
3. Гершанович М. Л. Осложнения химио- и гормонотерапии злокачественных новообразований. – Л., 1982. – 236 с.
4. Гречканев Г. О. Научное обоснование применения медицинского озона в комплексном лечении невынашивания беременности: Автореф. дисс. ... канд. мед наук. Иваново, 1995. – 24 с.
5. Гречканев Г. О. Роль озонотерапии в профилактике и лечении осложнений химиотерапии рака яичников // Акушерство и гинекология. – 2002. – С. 57–8.
6. Добротина А. Ф., Перетягин С. П., Конторщикова К. Н., Шакутина М. К. Влияние различных концентраций озона на метаболические показатели крови у женщин с анемией беременности // Нижегородский медицинский журнал. – 1995. – № 1. – С. 5–8.
7. Мирзоян Ж. В. Применение озона в акушерско-гинекологической практике. // Акушерство и гинекология. – 2000. – С. 45–6.
8. Новиков В. В., Добротина Н. А., Бабаев А. А. Иммунология, 2005. – С. 144–5.
9. Чередеев А. Н., Горлина Н. К., Козлов И. Г. CD-маркеры в практике клинико-диагностических лабораторий // Клиническая лабораторная диагностика. – 1999. – № 6. – С. 27–9.
10. Vieban-Haensler R. The use of ozone in medicine. 4th English edition 2002. – P. 30–1.

Поступила 26.09.2006.