

Материалы VIII научной сессии «СОВРЕМЕННОЕ РЕШЕНИЕ АКТУАЛЬНЫХ НАУЧНЫХ ПРОБЛЕМ В МЕДИЦИНЕ»

В Нижегородской государственной медицинской академии 18—19 марта 2009 г. состоялась восьмая научная сессия «Современное решение актуальных научных проблем в медицине». Сессия была организована силами научно-педагогического состава медицинской академии. Традиционно открыл сессию ректор НижГМА, Заслуженный деятель науки РФ, профессор Б.Е. Шахов. С приветственным словом выступили президент НижГМА, член-корр. РАН В.В. Шкарин, министр здравоохранения Нижегородской области А.В. Карцевский, ректор Нижегородской Духовной семинарии, Архиепископ Нижегородский и Арзамасский Георгий, директор департамента здравоохранения Нижнего Новгорода В.Н. Лазарев, начальник Института федеральной службы безопасности РФ С.М. Паршин. В рамках открытия конференции было представлено два пленарных доклада: О.В. Ковалишеной «Разработка и испытание новых технологий борьбы с инфекциями» и священника М.Н. Зазвонова «Православное отношение к здоровому образу жизни: традиции и современность».

Научные выступления молодых ученых были сгруппированы в восемь секций: «Образ жизни и здоровье», «Новые технологии в медицине», «Актуальные проблемы здоровья населения» и др.

В данном разделе журнала мы приводим тезисы докладов молодых ученых, принявших участие в секции «Новые технологии в медицине». Представлены сообщения, посвященные как фундаментальным исследованиям в медицине, позволяющим раскрыть механизмы нормального и патологического функционирования систем и органов, так и сообщения на тему использования новейших технологий диагностики и лечения в клинической практике. Созвучность тематики секции и содержания журнала обусловила целесообразность публикации тезисов данного раздела конференции в этом номере. Представленные материалы позволяют сделать краткий срез научных исследований, проводимых в НижГМА по современным технологиям в медицине.

ИССЛЕДОВАНИЕ ДИНАМИКИ НАКОПЛЕНИЯ И ВЫВЕДЕНИЯ ФОТОДИТАЗИНА НА ОПУХОЛЕВЫХ МОДЕЛЯХ МЕТОДОМ ДИФFUЗИОННОЙ ФЛЮОРЕСЦЕНТНОЙ ТОМОГРАФИИ

М.В. Ширманова, М.А. Сироткина, И.В. Балалаева, Н.Ю. Леканова, И.В. Крутова, А.Г. Орлова, М.С. Клешнин, Е.В. Загайнова

Стандартные методы изучения фармакокинетики фотосенсибилизаторов в испытаниях на животных — флюоресцентная спектроскопия, конфокальная микроскопия и спектрофотометрия — имеют дело с тканями *ex vivo*, **требуют большого количества образцов** или измерений и зачастую достаточно трудоемки. В связи с этим существует большая потребность в неинвазивных флюоресцентных методах, позволяющих проводить длительные исследования на одном животном *in vivo*.

Диффузионная флюоресцентная томография (ДФТ) — метод прижизненной визуализации флюоресценции на уровне целого организма. Одно из основных применений ДФТ — наблюдение экспериментальных опухолей, маркированных флюорофорами различной природы: флюоресцирующими белками, органическими красителями, полупроводниковыми нанокристаллами.

Цель работы — определение возможности метода ДФТ для исследования динамики накопления и выведения фотосенсибилизаторов на моделях перевивных опухолей.

Материалы и методы. В качестве моделей опухолей использовались эпидермоидная карцинома легких Льюис (LLC), рак шейки матки (РШМ-5) и солидная карцинома Эрлиха. Опухоли прививались линейным мышам в область левой лопатки путем подкожной инъекции взвеси опухолевой ткани в стерильной среде. Исследование начинали, когда размер опухоли достигал 5—7 мм.

Использован фотосенсибилизатор фотодитазин (ООО «Вета-Гранд») в терапевтической дозе в пересчете на мышей — 10 мг/кг массы тела. Фотодита-

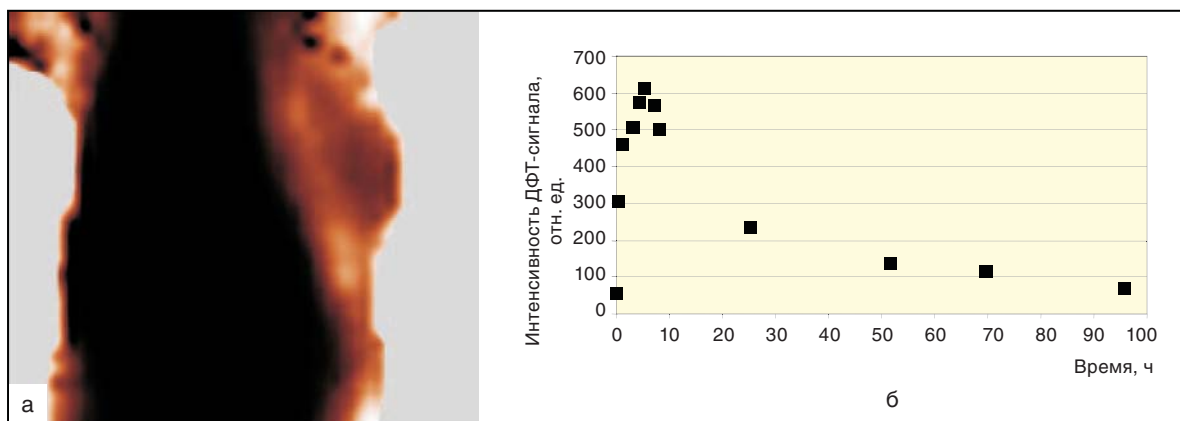
зин — препарат на основе глюкаминовой соли хлорина Е6, у которого максимум поглощения — 662 нм, максимум флюоресценции — 675 нм.

Работа выполнена на диффузионном флюоресцентном томографе ФДТ-2М, разработанном в Институте прикладной физики РАН (Нижний Новгород). Сканирование проводилось в конфигурации «на просвет» и обеспечивалось синхронным перемещением источника (полупроводниковый лазер с длиной волны 635 нм) и детектора (охлаждаемый высокочувствительный ФЭУ). Двумерные флюоресцентные изображения получали до введения фотосенсибилизатора (контроль); через 30 мин; 1; 2; 4; 6; 24; 48; 72; 96 ч после введения. Численную обработку изображений проводили в программе ImageJ.

Результаты. На диффузионном флюоресцентном томографе получены двумерные изображения, демонстрирующие накопление в опухолях и выведение фотосенсибилизатора. Установлено, что все использованные модели перевивных опухолей накапливают фотодитазин. При этом существенных отличий в динамике накопления и выведения не обнаружено. Установлено, что наиболее оптимальной для исследования селективности накопления является опухоль РШМ-5 по причине отсутствия крупных некротических очагов, медленной скорости роста и формирования округлых узлов (см. рисунок).

На этом же рисунке представлено изменение интенсивности ДФТ-сигнала в опухоли в процессе накопления и выведения фотодитазина. Внутривенное введение препарата приводит к быстрому возрастанию сигнала — 57 отн.ед. в контроле до 306 отн.ед. через 30 мин после инъекции. Максимальное накопление фотодитазина опухолевой тканью отмечено через 5 ч. Через 96 ч сигнал в опухоли близок к исходному уровню.

Результаты ДФТ-исследования подтверждены методами флюоресцентной спектроскопии и конфокальной флюоресцентной микроскопии и совпадают с данными литературы по фармакокинетике фотосенсибилизаторов хлориновой природы.



Динамика накопления в опухоли фотодитазина и его выведение: *а* — ДФТ-изображение опухоли РШМ-5 через 3 ч после инъекции (10 мг/кг); *б* — изменение интенсивности ДФТ-сигнала в опухоли

Заключение. Проведенное исследование позволяет сделать вывод о перспективности метода ФДТ для проведения фармакокинетических исследований фотосенсибилизаторов *in vivo*.

**НЕИНВАЗИВНЫЙ МОНИТОРИНГ
ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ
НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ**

*Р.Р. Калугина, И.А. Январева, Ю.А. Стрельцова,
С.В. Гамаюнов, В.В. Слугарев, А.Н. Денисенко,
И.А. Кузнецова, Н.М. Шахова*

Органосохраняющее лечение опухолей в настоящее время является генеральной концепцией клинической и экспериментальной онкологии, что обусловлено ростом числа онкологических заболеваний среди лиц молодого возраста. Реализация скрининговых программ, внедрение в клиническую практику уточняющих методов молекулярной биологии, достижений квантовой диагностики и биомаркеров позволили увеличить частоту выявления начальных стадий рака, при которых возможен органосохраняющий подход к лечению. Одним из способов лечения, реализующих такой подход, является фотодинамическая терапия (ФДТ): успешные результаты её использования позволяют надеяться на максимальный органосохраняющий и функциональный результат при адекватной онкологической эффективности [1—4]. Как успехи, так и ограничения в развитии ФДТ связаны прежде всего с внедрением новых видов фотосенсибилизаторов и схем их применения [5—7].

Эффективность ФДТ основывается на адекватности и своевременности воздействия на патофизиологические процессы. Для изучения эффективности новых модификаций метода ФДТ очень важно иметь такие технологии, которые позволяют проводить динамические наблюдения за процессами в живой системе, не оказывая на нее дополнительного влияния. К таким технологиям относятся бурно развивающиеся в последнее десятилетие методы оптической визуализации, в частности оптическая когерентная томография (ОКТ) [8]. Разновидностью ОКТ является кросс-поляризационная ОКТ, которая дает информацию не только о структуре биоткани по свойствам рассеяния, но и о некоторых ее физиологических характеристиках по способности к деполяризации [9]. Благодаря высокой разрешающей способности в сочетании с неинвазивностью, быстрое действие и режимом реального времени получения информации ОКТ привлекательна в качестве метода контроля различных видов лечения, так как позволяет проводить прижизненное динамическое изучение структуры исследуемых объектов и некоторых функциональных процессов [10, 11].

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ (№№ 07-02-01262, 07-02-01146) и Федерального агентства по науке и инновациям (проект № 02.522.11.2004).

Цель работы — оценка возможностей оптической когерентной томографии в проведении неинвазивного мониторинга патофизиологических процессов, происходящих при фотодинамической терапии.

Материалы и методы. Изучены результаты лечения методом ФДТ под контролем ОКТ 14 пациентов с неоплазией и фоновыми заболеваниями различных локализаций: базалиома и плоскоклеточный рак кожи, рак нижней губы, вирусный цервикит (CIN I), предрак (CIN II) и ранние формы рака (CIN III, cancer *in situ*) шейки матки. Критериями отбора больных для проведения ФДТ являлись «трудные» локализации, первично множественные опухоли и рецидивные состояния (неэффективность других методов лечения). Исследование выполнялось при добровольном информированном согласии пациентов.

ФДТ проводилась с использованием лазерного излучателя «Аткус-2» («Полупроводниковые приборы», С.-Петербург). В качестве фотосенсибилизатора применялся фотодитазин («Вета-Гранд», Москва) при системном введении или локальной аппликации.

Для прижизненного динамического контроля изменений опухоли и окружающих тканей, происходящих на фоне лечения, использованы стандартная и кросс-поляризационная ОКТ-установки, разработанные в ИПФ РАН (Н. Новгород). Основные технические параметры установок: длина волны зондирующего излучения — 1300 нм; мощность на объекте — около 1 мВт; глубина сканирования — до 2 мм; разрешение по глубине — 15 мкм, латеральное — 30 мкм; время получения изображения — 1—2 с., управление установкой, запись и демонстрация изображений производятся с помощью персонального компьютера в портативном варианте. Для получения изображений используется универсальный гибкий микроскоп (внешний диаметр 2,7 мм), состоящий из волоконно-оптического и электрического кабеля в гибкой трубке и сканера с системой линз на дистальном конце. Конструкция микроскопа позволяет проводить его стерилизацию традиционными методами.

Для реализации ФДТ-мониторинга ОКТ-исследование проводилось до лечения, через 24 ч. после лазерного воздействия, неоднократно в течение месяца после лечения и к моменту клинического выздоровления. Оптические данные верифицированы клинически и цитологически, при наличии показаний производилось гистологическое исследование.

Результаты и обсуждение. Известно, что первой реакцией тканей на ФДТ является реактивное экссудативное воспаление. Полученные нами оптические данные (рис.1, 2) согласуются с этой информацией. Уже через сутки после процедуры ФДТ (введение фотосенсибилизатора фотодитазина внутривенно и проведение лазерного воздействия по стандартной схеме) ОКТ регистрирует выраженные изменения. В периферических отделах опухоли прослеживаются признаки, характерные для отека тканей: появление на ОКТ-изображениях «темных» зон, стертость границы с неизмененными тканями. В фокусе опухоли также отмечается локальное снижение интенсивности ОКТ-сигнала (появление более темных участков), что является проявлением скопления жидкости.

Необходимо отметить, что аналогичные изменения наблюдаются в различных типах тканей: в коже (рис. 1) и слизистых оболочках (рис. 2).

Следующий этап ОКТ-мониторинга проводился через несколько суток, когда, как известно, начинается некроз тканей с реализацией перифокаль-

ного вторичного воспаления в прилежащих зонах (рис. 3). На 4-е сутки (рис. 3, а) после ФДТ в фокусе опухоли формируется бесструктурное изображение с высокой интенсивностью сигнала как в прямой, так и в ортогональной поляризации, характерное для некроза. К 12-м суткам развивается вторичное воспаление, связанное с разрешением некроза, что максимально проявляется в перифокальных зонах неравномерным снижением интенсивности ОКТ-сигнала (рис. 3, б).

ОКТ-мониторинг, проведенный через месяц после ФДТ, демонстрирует результаты лечения (рис. 4). Выраженная двуслойная структура изображения с четкими границами между слоями и в прямой, и в ортогональной поляризации свидетельствует о восстановлении внутренней структуры ткани. Однако некоторое повышение интенсивности сигнала верхнего слоя говорит о некоторых изменениях свойств эпителиального слоя.

Данный этап работы позволяет нам сделать лишь предварительное заключение, которое может быть сформулировано следующим образом:

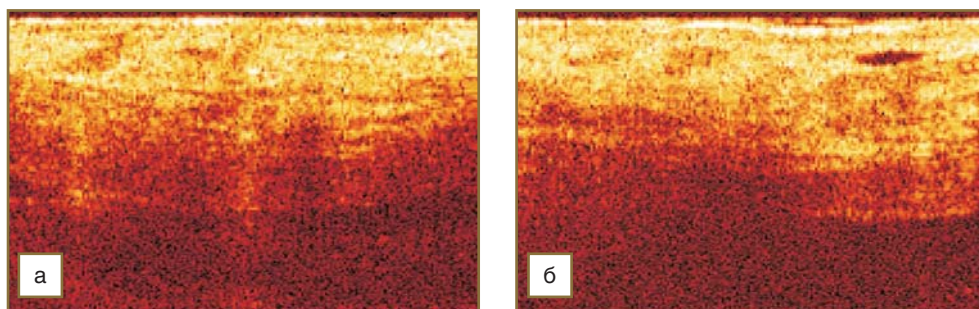


Рис. 1. ОКТ-изображения периферии опухоли (базалиома кожи околоушной области) до ФДТ (а) и через сутки после ФДТ (б)

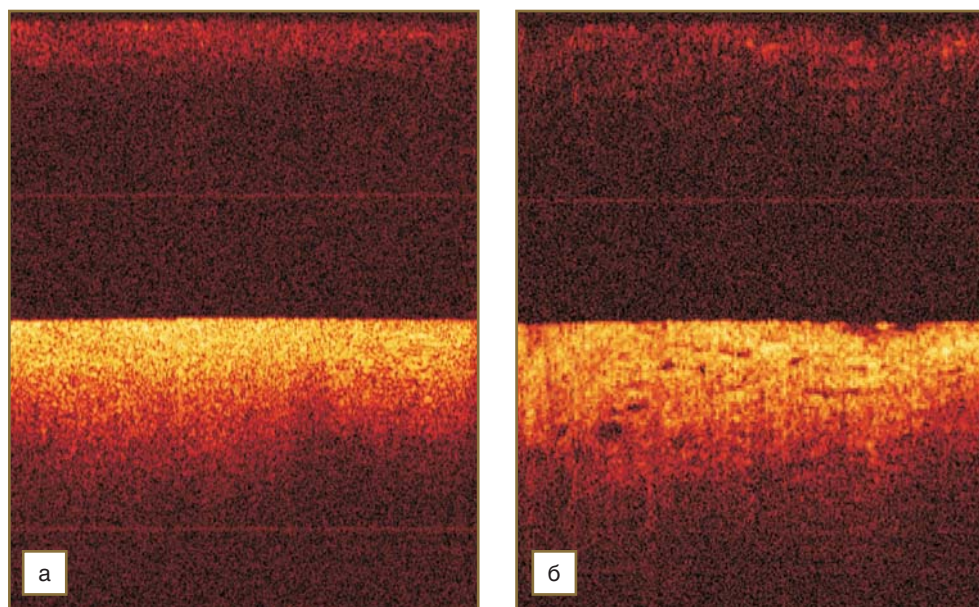


Рис. 2. Кросс-поляризационные ОКТ-изображения фокуса опухоли (рак шейки матки in situ) до ФДТ (а) и через сутки после ФДТ (б) (верхние изображения — ортогональная поляризация, нижние изображения — прямая поляризация)

Рис. 3. Кросс-поляризационные ОКТ-изображения опухоли (рак шейки матки *in situ*) на 4-е (а) и 12-е сутки (б) после ФДТ (верхние изображения — ортогональная поляризация, нижние — прямая поляризация)

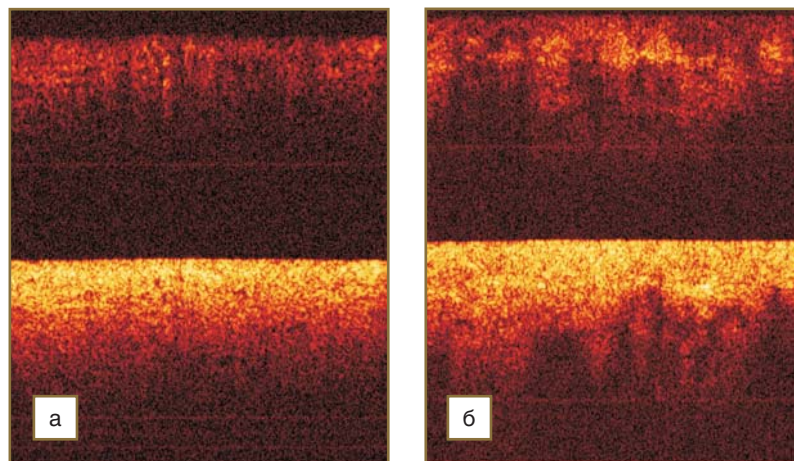
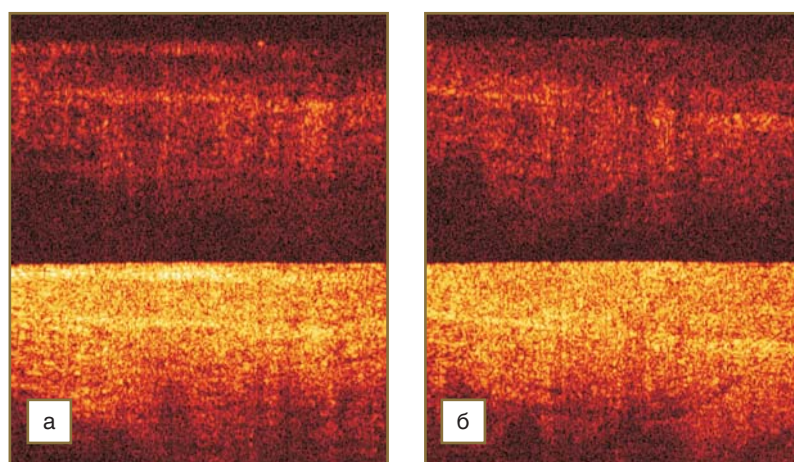


Рис. 4. Кросс-поляризационные ОКТ-изображения зоны фокуса (а) и периферии (б) через месяц после ФДТ опухоли шейки матки (рак *in situ*) (верхние изображения — ортогональная поляризация, нижние — прямая поляризация)



ОКТ способна детектировать патофизиологические и структурные изменения, происходящие в опухоли и окружающих тканях на фоне ФДТ;

кросс-поляризационная ОКТ более информативна по сравнению со стандартной для использования в качестве мониторинга воздействия.

Ранее для получения данных о патофизиологических процессах, реализующихся на различных стадиях ФДТ, необходимо было бы проведение хронического эксперимента на лабораторных животных с морфологической верификацией этапов лечения. Развитие такого метода, как ОКТ позволяет получить подобную информацию неинвазивно и в режиме реального времени, что может значительно сократить этап доклинической апробации новых схем ФДТ. Использование ОКТ в клинической практике позволит оценить адекватность и своевременность фаз лечения и при необходимости внести коррективы. В стадии заживления с использованием ОКТ можно оценивать эффективность проведенного лечения, а в отдаленном периоде проводить профилактические исследования с целью раннего выявления рецидивов.

Для широкой реализации ОКТ-мониторинга ФДТ в клинической практике необходимо продолжение исследования с целью набора статистичес-

ки достоверного материала. Для внедрения ОКТ-мониторинга ФДТ в экспериментальную медицину необходимо проведение исследований с использованием различных фотосенсибилизаторов, вариациями доз и способов введения препаратов, а также режимов лазерного воздействия.

Заключение. ОКТ-мониторинг может быть применен как в клинической практике на всех этапах ФДТ, так и в экспериментальных исследованиях при разработке новых видов фотосенсибилизаторов в качестве дополнительной, а в некоторых ситуациях и альтернативной морфологическим исследованиям технологии.

Литература

1. *Wilson B.C.* Photodynamic therapy for cancer: Principles. *Canadian Journal of Gastroenterology*, 2002; 16(6): 393—396.
2. *Dolmans D., Fukumura D., Jain R.K.* Photodynamic therapy for cancer. *Nature Reviews Cancer* 2003; 3(5): 380—387.
3. *Vrouenraets M.B., Visser G.W.M., Snow G.B., van Dongen G.A.M.S.* Basic principles, applications in oncology and improved selectivity of photodynamic therapy. *Anticancer Research* 2003; 23: 505—522.
4. *Гельфонд М.Л.* Фотодинамическая терапия в онко-

- логии. *Практическая онкология* 2007; 8(4): 204—210.
5. *Соболев А.С., Розенкранц А.А., Гилязова Д.Г.* Подходы к направленной внутриклеточной доставке фотосенсибилизаторов для увеличения их эффективности и придания клеточной специфичности. *Биофизика* 2004; 49(2): 351—379.
 6. *Dickson E.F.G., Goyan R.L., Pottier R.H.* New directions in photodynamic therapy. *Cellular and Molecular Biology* 2003; 48(8): 939—954.
 7. *Verma S., Watt G.M., Mai Z., Hasan T.* Strategies for enhanced photodynamic therapy effects. *Photochem Photobiol* 2007; 83(5): 996—1005.
 8. *Sergeev A.M., Dolin L.S., Reitze D.H.* Optical tomography of biotissues past, present and future. *Optics & Photonics News* 2001; 7: 28—35.
 9. *Gelikonov V.M., Gelikonov G.V.* New approach to cross-polarized optical coherence tomography based on orthogonal arbitrarily polarized modes. *Laser Physics Letters* 2006; 3(9): 445—451.
 10. *Boppart S.A., Herrmann J.M., Pitris C. et. al.* High-resolution optical coherence tomography-guided laser ablation of surgical tissue. *Journal of Surgical Research* 1999; 82(2): 275—284.
 11. Руководство по оптической когерентной томографии. Под ред. Н.Д. Гладковой, Н.М. Шаховой, А.М. Сергеева. М: Физматлит — Медицинская книга; 2007; 296 с.

ОСОБЕННОСТИ КОГНИТИВНОЙ ОБРАБОТКИ СЕНСОРНЫХ СИГНАЛОВ ПРИ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОМ СТРЕССОВОМ РАССТРОЙСТВЕ

П.И. Коган

Посттравматические стрессовые расстройства (ПТСР) развиваются у лиц, переживших эмоциональный или физический стресс, который является в высшей степени травмирующим практически для каждого человека. Такие травмы могут возникать в чрезвычайных ситуациях техногенного и природного характера. Их основные особенности: переживание травмы вновь и вновь, во сне и в мыслях в бодрствующем состоянии; эмоциональная глухота ко всем остальным переживаниям в жизни, включая отношения с другими людьми, и сопутствующие симптомы в виде вегетативной лабильности, депрессии и когнитивных нарушений (например, трудности сосредоточить внимание) [1]. Результатом стресса часто является существенное рассогласование между реальными объектами и их субъективными образами. Искаженное восприятие провоцирует ошибочные решения и действия. Опасность измененных состояний сознания резко усиливается, если человек вовлечен в деятельность по управлению сложными техногенными объектами, работает в зонах повышенного риска или наделен особыми полномочиями. Для уменьшения социального риска и повышения качества реабилитации при ПТСР необходимы оперативные методы идентификации когнитивных нарушений и количественные критерии, позволяющие оценивать степень и динамику когнитивной дисфункции.

Мы предлагаем для оценки когнитивных функций при ПТСР использовать технологии компьютерной кампиметрии и латерометрии, которые обеспечивают измерение пороговых характеристик осознания звуковых и зрительных сигналов у конкретного индивидуума в конкретном функциональном состоянии. В стрессовых ситуациях наблюдаются специфические изменения цветоразличения, порогов латерализации звука и функциональная межполушарная асимметрия [2, 3]. Мы предполагаем, что

эти показатели могут стать индикатором состояния когнитивной системы при ПТСР.

Цель работы — исследование цветоразличения и пространственного слуха при посттравматическом стрессовом расстройстве и определение параметров, специфичных для этого функционального состояния.

Материалы и методы. Исследование проведено в ГУ «Центр социальной реабилитации инвалидов и ветеранов боевых действий «Витязь» г. Дзержинска Нижегородской области. В нём участвовали 38 мужчин — участников боевых действий в Афганистане и Чечне с ПТСР и в качестве контрольной группы 24 условно здоровых испытуемых обоего пола.

Функция цветоразличения измерена методом компьютерной кампиметрии, а пороги латерализации дихотического стимула и функциональная межполушарная асимметрия — методом компьютерной латерометрии. Эти методы обеспечивают оперативную количественную оценку перцептивных функций человека для цветового зрения и пространственного слуха [4].

Результаты и обсуждение. По данным клинических исследований проведена оценка физиологического статуса пациентов с ПТСР. Установлено, что для этого функционального состояния характерны множественные нарушения вегетативных и моторно-двигательных функций.

Методом компьютерной кампиметрии выявлено, что в обеих группах пороги цветоразличения достоверно выше для зеленого цвета. Статистически значимые отличия ($p < 0,05$) наблюдаются у значений порога цветоразличения по красному цвету: в группе испытуемых с ПТСР этот порог достоверно выше.

Методом компьютерной латерометрии получены достоверные отличия группы испытуемых с ПТСР от группы условно здоровых испытуемых по показателям звуколокализационной функции (ЗЛФ). В группе испытуемых с ПТСР показатель возбудимости ($dTmax$) и показатель устойчивости ($dTrash$) при иллюзии смещения звука влево статистически значимо выше, чем в группе условно здоровых испытуемых ($p < 0,05$). Показатель мощности ЗЛФ вычислялся как модуль векторной разности для

трехмерного пространства $dT_{min}:dT_{max}:dTrash$ при смещении звукового образа вправо и влево по формуле:

$$ЗЛФ = \sqrt{dT_{min}^2 + dT_{max}^2 + dTrash^2}.$$

Установлено, что показатель мощности ЗЛФ при движении звукового образа вправо у испытуемых с ПТСР статистически значимо выше, что свидетельствует о доминировании левого полушария.

Заключение. Существуют параметры звукокализационной функции и функции цветоразличения, специфичные для посттравматических стрессовых расстройств. Использование этих параметров возможно при оценке когнитивной системы в данном функциональном состоянии.

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ КОМПЛЕКСНОГО ПРИМЕНЕНИЯ ОЗОНА И ХИМИОПРЕПАРАТОВ В УСЛОВИЯХ РОСТА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОПУХОЛИ

Е.С. Клинцева

Опыт работы коллектива кафедры биологии НижГМА, исследующего данную проблему с 1994 г., показывает возможность использования озона в лечении злокачественных новообразований. Эксперименты, выполненные на нелинейных крысах с перевивными штаммами «саркома-45» и «лимфосаркома Плисса», выявили, что озон в высоких концентрациях (около 5 мг/л) при локальном введении обладает антиканцерогенным действием [1], а в комбинированном использовании с ионизирующим излучением повышает эффективность противоопухолевой терапии [2]. В клинической практике подтверждена эффективность использования озонированного физиологического раствора после курса полихимиотерапии в качестве средства, позволяющего снизить токсические эффекты цитостатиков [3—5]. Однако остается много нерешённых вопросов.

Цель работы — изучение эффективности совместного применения озонированного физиологического раствора и химиопрепаратов (5-фторурацил, доксорубин) на организм животных с гепатомой Зайделя.

Материалы и методы. На первом этапе исследования животным с гепатомой Зайделя (50 крыс) с 7-х суток роста опухоли вводили озонированный физиологический раствор (ОФР) внутривенно с концентрацией озона в озono-кислородной смеси 0,2 мг/л и скоростью газотока 0,5 л/мин, чередуя его с введением 5-фторурацила (5-ФУ) — 500 мг/м² внутримышечно, в течение 10 сут. На втором этапе животные (60 крыс) на 12-е сутки роста опухоли получали инъекции доксорубина (ДР) в дозе 60 мг/м² внутривенно. Предварительно с 7-х суток ежедневно вводили ОФР внутривенно (концентрация озона в озono-кислородной смеси — 0,2 мг/л,

Литература

1. Каплан Г.И. Клиническая психиатрия. М; 1994.
2. Стромкова Е.Г., Парин С.Б., Полевая С.А. Влияние стрессовой ситуации на дифференциальные пороги восприятия цвета. В кн.: Вестник Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского 2004; с. 46—56.
3. Полевая С.А., Парин С.Б. Временные режимы формирования субъективного звукового образа. В кн.: Медицина в зеркале информатики. М: Наука; 2008; с. 47—62.
4. Полевая С.А., Е.В.Еремин, А.В.Зевеке. Компьютерные технологии для исследования структуры субъективного сенсорного пространства человека. Нижегородский мед журнал 2003; 1: 17—24.

скорость газотока — 0,5 л/мин). Озono-кислородную смесь получали из медицинского сверхчистого кислорода на озонаторе АОТ-НСК-01-«С (А-16)» (РФЯЦ-ВНИИЭФ, г. Саров).

Оценку противоопухолевого эффекта проводили, во-первых, по массе опухоли животных-опухоленосителей по окончании опыта, во-вторых, по увеличению продолжительности жизни [6]. Про- и антиоксидантный статус организма оценивали по интенсивности хемилюминесцентного свечения и общей антиоксидантной активности плазмы крови животных [7]. Оценка морфологической картины плазмы крови была проведена методом клиновидной дегидратации [8]. Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием программы Statistica 6.0.

Результаты и обсуждение. Проведенные исследования показали, что на фоне введения и ОФР, и 5-ФУ, и ДР происходит изменение скорости роста гепатомы Зайделя, однако только комплексное воздействие приводит к наиболее высоким значениям торможения роста опухолей. Совместное введение ОФР и 5-ФУ крысам с перевитой опухолью общим курсом 10 сут тормозит рост опухоли на 66%. Введение ОФР и ДР в дозе 60 мг/м² внутривенно общим курсом 7 сут тормозит рост опухоли на 56% ($p \leq 0,5$). Совместное использование озона и 5-ФУ увеличивает продолжительность жизни экспериментальных животных на 86% на фоне роста гепатомы. Согласно нашим результатам, ОФР и 5-ФУ проявляют аддитивный эффект в отношении снижения величины торможения роста опухоли. Аддитивный эффект проявляется и при использовании ОФР и ДР.

Рост опухолевых штаммов в организме крыс приводит к существенному дисбалансу компонентов про- и антиоксидантной системы. Наибольшая коррекция окислительных процессов в плазме крови животных наблюдалась в группах крыс, получавших совместные введения ОФР и 5-ФУ, ОФР и ДР. Совместное применение ОФР и 5-ФУ снижает интенсивность хемилюминесцентного свечения на 36% и повышает общую антиоксидантную актив-

ность на 45% в плазме крови животных-опухоленосителей ($p \leq 0,5$). Введение ОФР и ДР приводит к снижению интенсивности хемилюминесцентного свечения на 10%, повышению общей антиоксидантной активности на 33% ($p \leq 0,5$).

Эффективность комплексного введения ОФР и химиопрепаратов крысам с гепатомой Зайделя отражается в морфологической структуре фации плазмы крови. Мы установили, что у животных с экспериментальными опухолями по сравнению со здоровыми крысами, во-первых, происходит нарушение основных структурных элементов фации: изменяется соотношение зон, количество трещин, конкреций, морщин. Во-вторых, каждое из использованных в эксперименте воздействий приводит к изменениям структуропостроения плазмы крови. При совместном использовании ОФР с 5-ФУ или ДР наблюдается наибольшая коррекция морфологической картины фаций: происходит восстановление размеров периферической и центральной зон, основных структурных элементов: трещин, конкреций, морщин.

Корреляционный анализ показал, что количество трещин в периферической и центральной зонах прямо пропорционально максимальной интенсивности хемилюминесцентного свечения (I_{\max}), отражающей уровень окислительных процессов ($r_2 = 0,59$; $p < 0,05$), обратно пропорционально общей антиоксидантной активности ($r_1 = -0,51$; $p < 0,05$); значение ширины периферической зоны прямо пропорционально содержанию альдегид- и кетон-динитрофенилгидразонов ($r_1 = 0,59$; $r_2 = 0,70$; $p < 0,05$); количество морщин — уровню общей антиоксидантной активности ($r_1 = 0,63$; $p \leq 0,05$).

Заключение. Комбинированное введение озонированного физиологического раствора и 5-фторурацила (доксорубицина) крысам с гепатомой Зайделя тормозит рост опухоли и увеличивает продолжительность жизни экспериментальных животных. Установлен аддитивный противоопухолевый эффект такого введения. Совместное использование озона и химиопрепаратов приводит к

наибольшей коррекции окислительных процессов в плазме крови крыс-опухоленосителей. Эффективность совместного применения химиопрепаратов и озона отражается в особенностях структуропостроения плазмы крови и проявляется в приближении кристаллооптических характеристик к показателям здоровых животных.

Литература

1. *Щербатюк Т.Г.* Влияние озонированного физиологического раствора на прооксидантную и антиоксидантную системы у крыс с саркомой-45. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Н. Новгород; 1997.
2. *Щербатюк Т.Г. и др.* Комбинированное использование озона и гамма-излучения в условиях экспериментального онтогенеза. В кн.: Тезисы докладов 4-й Всероссийской конференции «Озон и методы эфферентной терапии в медицине». Н. Новгород; 2000; с.13—14.
3. *Алясова А.В., Конторщикова К.Н.* К вопросу озонотерапии при раке молочной железы. Нижегородский мед журнал. Приложение «Озонотерапия». 2003; с. 190—191.
4. *Горячев М.Е. и др.* Коррекция озоном уровня перекисного окисления липидов при проведении общей управляемой гипертермии у онкологических больных. Нижегородский мед журнал. Приложение «Озонотерапия». 2003; с. 129—130.
5. *Гречканев Г.О., Качалина Т.С.* Озонотерапия в гинекологии (современное состояние вопроса). Нижегородский мед журнал. Приложение «Озонотерапия». 2003; с. 112—115.
6. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М: ЗАО «ИИА «Ремедиум»; 2004; 398 с.
7. *Кузьмина Е.И., Нелюбин А.С., Щенникова М.К.* Применение индуцированной хемилюминесценции для оценки свободнорадикальных реакций в биологических субстратах. В кн.: Межвузовский сборник биохимии и биофизики микроорганизмов. Горький; 1983; с. 179 - 183.
8. *Шабалин В.Н., Шатохина С.Н.* Морфология биологических жидкостей человека. М: Хризостом; 2001; 304 с.

ПРОАнтиОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ И ВЯЗКОСТЬ ПЛАЗМЫ КРОВИ БОЛЬНЫХ С МЕСТНО-РАСПРОСТРАНЕННЫМИ ОПУХОЛЯМИ ГОЛОВЫ И ШЕИ В ПРОЦЕССЕ ХИМИОЛУЧЕВОГО ЛЕЧЕНИЯ

В.А. Лазарева, Д.В. Давыденко, И.В. Мельникова

Одним из основных компонентов комплексного лечения распространенных злокачественных новообразований орофарингеальной зоны является химиолучевая терапия, которая может сопровождаться рядом тяжелых местных и системных осложнений. Известно, что у пациентов с онкологическими заболеваниями еще до начала лечения

наблюдаются выраженные нарушения состояния про- и антиоксидантной системы организма, зависящие от размера опухоли и стадии заболевания [1, 2].

Цель работы — оценить значение показателей перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы для прогноза заболевания, проследить динамику прооксидантно-антиоксидантного статуса и вязкости плазмы крови в процессе химиолучевого лечения у больных с местно-распространенными злокачественными новообразованиями полости рта, глотки и гортани.

Материалы и методы. С октября 2005 г. по ноябрь 2008 г. в исследование были включены 62

пациента в возрасте от 34 до 68 лет с местно-распространенными опухолями полости рта, глотки и гортани, которые были сопоставимы по локализации, стадии, возрасту, морфологической структуре и другим факторам, оказывающим влияние на прогноз заболевания. Пациентам был запланирован курс полихимиотерапии (ПХТ) по схеме 5-фторурацил+цисплатин, затем 2 этапа химиолучевого лечения до СОД 68—70 Гр.

Для оценки отдаленных результатов по критерию выживаемости использовался метод Каплана—Мейера. Для сравнения выживаемости в группах применялся логарифмический ранговый критерий. Забор венозной крови у пациентов осуществлялся в следующие сроки: до начала лечения, до начала каждого из этапов химиолучевого лечения, в момент первых клинических проявлений побочных эффектов лечения, в срок появления максимальных проявлений осложнений лечения, а также в конце 1-го этапа химиолучевого лечения.

Группу контроля составили 10 пациентов ЛОР-отделения с хроническими воспалительными заболеваниями органов головы и шеи.

Исследование активности свободно-радикальных процессов в организме проводилось следующим образом:

1) начальный этап ПОЛ, заключающийся в генерации активных форм кислорода, косвенно оценивали методом индуцированной хемилюминесценции плазмы крови (Кузьмина Е.И., 1983) на приборе БХЛ-06М (Н. Новгород); регистрировали I_{\max} — максимальную интенсивность свечения исследуемой пробы, отражающую общую свободно-радикальную активность образца плазмы;

2) состояние конечного этапа ПОЛ, характеризующегося образованием неметаболизирующихся гидроперекисей липидов и других соединений, оценивали по уровню малонового диальдегида (МДА) методом спектрофотометрии (спектрофотометр HELIOS ESCORT-300C, Thermo Spectronic, USA); содержание в плазме МДА выражали в единицах оптической плотности относительно количества общих липидов (ед.опт.пл./г ОЛ);

3) с целью оценки соотношения исследуемых этапов свободно-радикального окисления был введен индекс $I_{\max}/\text{МДА}$.

Состояние антиоксидантной системы оценивали по следующим показателям:

1) общую антиоксидантную активность (ОАА) образца определяли методом индуцированной хемилюминесценции на приборе БХЛ-06М;

2) ферментное звено антиоксидантной системы оценивали по уровню активности супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы в эритроцитах спектрофотометрическим методом (СФ HELIOS ESCORT-300C, Thermo Spectronic, USA), выражали в единицах активности относительно содержания гемоглобина;

3) вязкость плазмы крови измерялась на ультразвуковом вискозиметре, разработанном в ИПФРАН

(Н. Новгород). На шкале прибора показания определяются в микроамперах. Существует калибровочный график пересчета показаний прибора в вязкость исследуемой среды в сантипуазах.

Полученные данные были обработаны с помощью непараметрических методов статистики.

Результаты и обсуждение. Минимальный срок наблюдения за пациентами составил 12 мес, максимальный — 37 мес (медиана — 21 мес). По результатам ретроспективного анализа в зависимости от исхода заболевания пациенты разделились на 2 группы.

В группу «благоприятного прогноза» вошли 29 больных, завершивших лечение в соответствии с планом, у которых была зарегистрирована частичная или полная ремиссия, а прогрессирование заболевания возникало не ранее, чем через 12 мес после окончания лечения. 18 пациентов данной группы живы без признаков прогрессирования в сроки от 12 до 37 мес от начала лечения, четверо умерли от причин, не связанных со злокачественным новообразованием. Живы и получают лечение по поводу локального рецидива новообразования 7 человек. Общая одногодичная выживаемость среди этой группы пациентов составила 91,1%, общая трехлетняя выживаемость — 38%, медиана выживаемости — 20 мес. Содержание МДА в данной группе составило $4,59 \pm 0,51$ отн. ед.; индекс $I_{\max}/\text{МДА}$ — $0,61 \pm 0,31$; I_{\max} — $2,02 \pm 0,35$ мВ. Средний интегральный показатель ОАА составил $0,04 \pm 0,01$ отн. ед.; средняя активность СОД — $169,53 \pm 15,37$ ед. акт./г Нв. Значения I_{\max} и ОАА достоверно не отличались от таковых в группе контроля. Уровень МДА достоверно возрастал к моменту начала ранних клинических проявлений осложнений лечения на 1-м этапе химиолучевой терапии — до $9,07 \pm 0,34$ отн. ед. Вязкость плазмы крови до начала лечения составила $1,6 \pm 0,21$ сПз, достоверно повышалась в момент разгара клинических проявлений до $1,84 \pm 0,1$ сПз.

33 человека составили группу, условно названную группой неблагоприятного прогноза. Только восьми из них удалось завершить лечение в соответствии с планом. У 11 пациентов оно было прервано в связи с прогрессированием заболевания на фоне проводимого лечения, у троих — вследствие развития побочных эффектов тяжелой степени. Все больные, вошедшие в эту группу, умерли в течение 12 мес с момента начала лечения, медиана выживаемости составила 5 мес. Уровень МДА в данной группе составил $6,5 \pm 0,56$ отн. ед., индекс $I_{\max}/\text{МДА}$ — $0,17 \pm 0,06$; I_{\max} — $1,72 \pm 0,18$ мВ. Уровень МДА достоверно снижался после проведения 1-го курса ПХТ до $5,03 \pm 0,43$ отн. ед. ОАА составила $0,06 \pm 0,01$ отн. ед., активность СОД — $39,34 \pm 1,13$ ед. акт./г Нв. Вязкость плазмы крови до начала лечения составила $2,02 \pm 0,22$ сПз, достоверно снижалась после 1-го курса ПХТ до $1,64 \pm 0,2$ сПз. Уровень I_{\max} достоверно возрастал после проведения 1-го курса ПХТ, в момент разгара 1-го этапа лечения, а

также в момент ранних клинических проявлений осложнений 2-го этапа химиолучевого лечения — до $1,99 \pm 0,02$; $1,89 \pm 0,04$ и $2,08 \pm 0,02$ мВ соответственно. ОАА достоверно снижалась к моменту ранних проявлений осложнений лечения на 2-м этапе химиолучевой терапии до $0,04 \pm 0,003$ отн. ед.

Была выявлена умеренная положительная корреляция между значениями ОАА и вязкостью плазмы крови, умеренная отрицательная корреляция между уровнем вязкости плазмы крови и свободно-радикальной активностью после 1-го индукционного курса ПХТ ($0,42$ и $-0,53$ соответственно). Подобная закономерность также была отмечена в момент ранних клинических проявлений на 1-м этапе химиолучевого лечения ($0,49$ и $-0,34$ соответственно), в конце 1-го этапа лечения и перед 2-м этапом химиолучевой терапии ($0,7$ и $-0,6$ соответственно). Различия показателей как прооксидантного, так и антиоксидантного статуса в группах с благоприятным и неблагоприятным прогнозом оказались статистически значимыми ($p=0,01$).

Различия между группами по критерию общей выживаемости также оказались статистически значимыми ($p<0,001$).

Известно, что процессы ПОЛ играют важную роль не только в первичных механизмах канцерогенеза, но и в периоды роста и прогрессирования новообразования. Наше исследование показало, что у больных местно-распространенным плоскоклеточным раком головы и шеи наблюдаются значительные изменения прооксидантного и антиоксидантного статуса, а также вязкости плазмы

крови. Оказалось, что степень изменения данных показателей коррелирует с исходом заболевания и не зависит от стадии, так как в группах с благоприятным и неблагоприятным прогнозом были пациенты с III и IV стадией заболевания. Обнаружена высокая степень корреляции между вязкостью и показателями биохемилюминесцентного свечения плазмы крови. Установлено, что изменения параметров проантиоксидантной системы организма в процессе химиолучевого лечения зависят от исходного состояния свободно-радикального гомеостаза.

Заключение. Показатели про- и антиоксидантной системы, а также уровень вязкости плазмы крови, по всей видимости, отражают биологические особенности новообразования и могут быть использованы для прогнозирования исходов заболевания у лиц с местно-распространенными злокачественными новообразованиями орофарингеальной зоны.

Литература

1. *Ткачев С.И., Любаев В.Л., Матякин Е.Г., и др.* Химиолучевая терапия плоскоклеточного рака головы и шеи. В кн.: VII Российская онкологическая конференция. Москва, 27 ноября 2003. М; 2003.
2. *Лебедева В.А., Кулешов В.М., Сафронов И.Д. и др.* Перекисное окисление липидов и антиоксидантная активность у больных с раком яичников. Медицина в Кузбассе: Актуальные проблемы онкогинекологии 2004; 11: 46—47.

ИММУНОЦИТОХИМИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРЕДСЕРДНОГО НАТРИЙУРЕТИЧЕСКОГО ПЕПТИДА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ВАЗОРЕНАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ У КРЫС

М.В. Рахчеева, М.Л. Бугрова

Предсердный натрийуретический пептид (ANP) охарактеризован как регуляторная диуретическая субстанция, ответственная за поддержание водно-солевого равновесия и снижение артериального давления [1, 2]. Синтез и хранение его осуществляется в гранулах секреторных кардиомиоцитов предсердий [3]. Интенсивность выделения гранул, содержащих ANP, при различных экстремальных состояниях организма изучена недостаточно.

Цель исследования — изучение секреции ANP в секреторных кардиомиоцитах правого предсердия крыс в условиях экспериментальной вазоренальной гипертензии, развившейся вследствие ишемии почки.

Материалы и методы. Эксперименты проведены на 10 белых лабораторных нелинейных крысах-самцах массой 180—220 г. Вазоренальную

гипертензию изучали на двупочечной модели с перевязкой левой почечной артерии по Когану [4]. Электронно-микроскопический анализ образцов ткани правого предсердия у интактных животных и на 30-е сутки после перевязки левой почечной артерии проводили по стандартной методике. Срезы контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца, просматривали в электронном микроскопе Morgagni 268D. Применяли морфометрический метод подсчета гранул в полях зрения (37×37 мкм). Для иммуноцитохимического определения ANP применяли поликлональные антитела к ANP (Rabbit anti-Atrial Natriuretic Factor (1-28) (rat), Peninsula Laboratories, LLC, Bachem). В качестве вторых антител использовали белок А, конъюгированный с коллоидным золотом (15 нм) (Protein-A/Gold, 15 nm, EM Grade, Electron Microscopy Sciences). Для оценки достоверности использовали непараметрический критерий Манна—Уитни.

Результаты и обсуждение. С помощью электронно-микроскопической иммуноцитохимии установлено, что секреторные гранулы правого предсердия являются формой хранения предсердного натрийуретического пептида. Наличие в цитоплазме

Изменение соотношения различных популяций гранул секреторных кардиомиоцитов, количество гранул в п. зр. (M±m)

Серии эксперимента	Гранулы секреторных кардиомиоцитов			
	зрелые	растворяющиеся	субсарколем-мальные	Всего
Интактные животные (n=5)	111,37±5,45	66,05±3,34	29,44±1,70	206,81±8,16
30-е сутки после перевязки (n=5)	52,44±3,54* p=0,00001	93,56±4,21* p=0,000004	33,83±2,19 p=0,5356	179,83±8,34* p=0,001428

* — статистически значимые различия с интактной группой.

ме в данный период секреторных гранул, содержащих ANP, с преобладанием растворяющихся форм свидетельствовало об усиленном выделении гормона в кровь [5] (см. таблицу).

Эту гиперактивность эндокринной функции предсердных секреторных кардиомиоцитов можно рассматривать как компенсаторную реакцию, направленную на сдерживание гипертензии. Однако несмотря на активное выделение ANP в кровь, на 30-е сутки после перевязки левой почечной артерии у большей части животных артериальное давление оставалось повышенным. Можно предположить, что морфофункциональные изменения в контралатеральной почке вызывало сокращение количества рецепторов типа А к ANP [6], в результате чего не происходило ингибирования выработки ренина и альдостерона. Следовательно, продолжалась чрезмерная активация ренин—ангиотензин—альдостероновой системы, вызванная перевязкой левой почечной артерии, что приводило к нарушению физиологического действия ANP, т.е. к повышению артериального давления.

НЕИНВАЗИВНЫЙ ОПТИЧЕСКИЙ МЕТОД ОЦЕНКИ КИСЛОРОДНОГО СТАТУСА НОВООБРАЗОВАНИЙ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Н.Г. Голубятникова, А.В. Масленникова,
Г.Ю. Голубятников, А.Г. Орлова,
В.И. Плеханов, А.А. Артифексова,
Н.М. Шахова, В.А. Каменский, И.В. Турчин

Рак молочной железы представляет собой морфологически и патогенетически полиморфное заболевание, характеризующееся спектром конкретных биологических особенностей. В течение последних 10—15 лет выявлены ключевые механизмы его развития и прогрессирования, а также обнаружены молекулярные маркеры, наличие или отсутствие которых позволяет строить прогноз заболевания и определять индивидуальную тактику

Литература

1. Lee C.Y., Burnett J.C. Natriuretic peptides and therapeutic applications. *Heart Fail Rev* 2007; 12: 131—142.
2. Рахчеева М.В., Мухина И.В., Бугрова М.Л. Натрийуретические пептиды в регуляции сердечно-сосудистой системы. *Нижегородский мед журнал* 2006; 5: 96—102.
3. Biondo A.W., Ehrhart E.J., Sisson D.D. et al. Immunohistochemistry of atrial and brain natriuretic peptides in control cats and cats with hypertrophic cardiomyopathy. *Vet Pathol* 2003; 40: 501—506.
4. Коган А.Х. Воспроизведение экспериментальной гипертензии у крыс стенозированием почечных артерий. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия* 1962; 3: 79—80.
5. Коростышевская И.Н., Максимов В.Ф. Ультраструктурные особенности гормонопродуцирующих кардиомиоцитов в некоторых экспериментальных и клинических условиях. *Арх анат* 1989; **XCVI (2): 42—49.**
6. Liu R.T., Xiao H.L., Qui D.G. et al. Expression of A-type atrial natriuretic peptide receptor in the kidneys of renovascular hypertension rats and its implication. *Sichuan Da Xue Bao Yi Ban* 2005; 36: 776—778.

лечения. Большие успехи достигнуты в разработке методов ранней диагностики и скрининга рака молочной железы. Тем не менее, до настоящего времени остаются нерешенными многие вопросы, связанные с диагностикой, мониторингом лечения и определением некоторых биологических свойств рака молочной железы. Кислородный статус злокачественных новообразований рассматривается в настоящее время как один из ключевых факторов, определяющих прогноз заболевания и эффективность лечебных воздействий. Состояние хронической гипоксии, которое является характерной физиологической особенностью солидных опухолей, возникает в результате несовершенного по сравнению с нормальными тканями неангиогенеза. При наличии в злокачественном новообразовании обширных зон со сниженным парциальным давлением кислорода эффективность лучевой и

химиотерапии существенно снижается. Кроме того, гипоксия опосредованно воздействует на пути сигнальной трансдукции и регуляцию транскрипции ряда генов и белков, являясь, таким образом, независимым источником опухолевой прогрессии.

Известные на сегодняшний день способы определения степени оксигенации тканей имеют существенные ограничения. Иммуногистохимическое исследование может быть осуществлено только однократно *ex vivo*. **Полярографическое измерение** pO_2 , которое является «золотым стандартом» определения кислородного статуса тканей, возможно только в случае поверхностных опухолей; кроме того, из-за инвазивности метода его применение в клинике крайне ограничено. Магнитно-резонансная томография, позитронно-эмиссионная томография и компьютерная томография эмиссией одиночных фотонов с контрастирующими агентами малодоступны для широкого применения в силу высокой стоимости.

Метод оптической диффузионной томографии (ОДТ) основан на различиях в оптических свойствах (показатели рассеяния и поглощения) здоровых и патологических участков тканей. Он имеет широкий ряд приложений, связанных с необходимостью проводить исследования структур и процессов, протекающих глубоко под поверхностью (до 8 см). Применение различных длин волн позволяет наблюдать тканевые составляющие, имеющие различный оптический контраст. Определение состава тканей основано на различной зависимости коэффициента поглощения ее компонентов от длины волны. Основными хромофорами в красном и инфракрасном диапазоне длин волн являются оксигенированный (окисленный) гемоглобин, дезоксигенированный (восстановленный) гемоглобин, вода и липиды, которые значительно отличаются друг от друга по спектрам поглощения. Это позволяет проводить исследование кровенаполнения, общего содержания гемоглобина, степени оксигенации крови, содержания воды и концентрации липидного компонента. Перечисленные свойства существенно отличаются у нормальных и опухолевых тканей.

Цель исследования — изучение возможностей оптической диффузионной томографии в определении кислородного статуса опухолей молочной железы.

Материалы и методы. Обследование методом ОДТ было проведено у 5 добровольцев в возрасте от 22 до 59 лет без клинически определяемой патологии молочной железы и у 8 пациенток Нижегородского областного онкологического диспансера в возрасте от 30 до 77 лет с диагнозом «рак молочной железы». Наличие злокачественного новообразования во всех случаях подтверждено цитологически.

Процедура ОДТ осуществлялась накануне оперативного вмешательства, после которого выполнялось гистологическое и иммуногистохимическое исследование удаленной опухоли. Работа проводи-

лась на основании разрешения этического комитета Нижегородской государственной медицинской академии. Все пациентки подписывали информированное согласие на выполнение процедуры.

ОДТ проводилась на установке, разработанной в Институте прикладной физики РАН (Н. Новгород). Сканирование осуществлялось на трех длинах волн: 684 нм, соответствующей максимуму поглощения восстановленного гемоглобина; 850 нм, соответствующей максимуму поглощения оксигемоглобина, и 794 нм, на которой коэффициенты поглощения окисленного и восстановленного гемоглобина совпадают. Данные о поглощении на всех трех длинах волн необходимы при расчете компонентного состава тканей. Диффузно рассеянное тканью молочной железы излучение от лазерных источников детектировалось с помощью фотоэлектронного умножителя (ФЭУ). Сканирование выполнялось при синхронном пошаговом перемещении источника и детектора, расположенных на сагиттальной оси с противоположных сторон исследуемого объекта. Максимальный возможный размер области сканирования — 15×15 см. В каждой позиции «источник — детектор» производилось считывание данных от всех трех источников. Общее время сканирования составляло в зависимости от размера молочной железы от 10 до 30 мин.

В ходе сканирования молочная железа располагалась между двумя стеклянными пластинами, препятствующими ее контакту с излучателем и фотоприемником, и слегка сдавливалась с целью выравнивания толщины органа в области сканирования. Расстояние между пластинами фиксировалось. В качестве метода сравнения использовали ультразвуковое исследование, которое проводилось на аппарате «ALOKA SSD 3500» непосредственно перед процедурой ОДТ.

Первым этапом исследования являлось получение ОДТ-изображений непосредственно в процессе сканирования. На них отображались амплитуда и фаза прошедшего через исследуемую ткань излучения для трех длин волн. Локальное изменение соответствующих показателей свидетельствовало о наличии оптической неоднородности в исследуемой зоне.

На втором этапе путем численной обработки полученных изображений воссоздавали картину распределения коэффициентов поглощения и рассеяния на трех длинах волн.

Конечным этапом было восстановление двумерного распределения концентраций окисленного гемоглобина [O_2Hb], восстановленного гемоглобина [Hb] и **уровня сатурации** крови [StO_2]. Уровень насыщения крови кислородом определяли по формуле $StO_2 = O_2Hb / [Hb + O_2Hb] \times 100\%$.

Результаты и обсуждение. Проведенное пилотное исследование продемонстрировало, что максимальная возможная глубина детектирования составляет 80 мм. ОДТ-изображения молочной же-

лезы в норме характеризовались однородностью и отсутствием каких-либо включений. Амплитуда сигнала, так же, как коэффициенты поглощения и рассеяния, не изменялась на всей области сканирования. В ткани молочной железы отмечалось равномерное распределение и стабильные концентрации оксигенированного и восстановленного гемоглобина, а также равномерное насыщение крови кислородом. Уровень сатурации крови в норме составлял от 80 до 90%, при этом с возрастом наблюдалась тенденция к его снижению.

В отличие от нормы ОДТ-изображения молочной железы при наличии злокачественного новообразования характеризовались наличием оптических неоднородностей, при этом зона опухоли четко выделялась на фоне окружающих тканей. Непосредственно в процессе исследования в области новообразования на всех длинах волн фиксировалось снижение амплитуды сигнала. Проекция расположения опухоли на ОДТ-изображении отличалась от нормальной ткани повышенным поглощением на всех длинах волн, что может объясняться присутствием в этой области более высоких концентраций хромофоров.

Как показали результаты экспериментов, в зоне опухоли по сравнению с окружающими здоровыми тканями концентрации окисленного и восстановленного гемоглобина оказались повышены, а уровень насыщения кислородом снижен, также обращала

на себя внимание и неравномерность распределения концентраций исследуемых хромофоров внутри опухоли. Центральная зона новообразования характеризовалась повышенным содержанием восстановленной формы гемоглобина, тогда как в периферической части преобладала окисленная форма. Сатурация кислорода снижалась от периферии к центральной части опухоли.

Наконец, информация о кислородном статусе была получена даже в случае новообразований размерами не более 1 см. В них удавалось обнаружить зоны с существенно сниженной сатурацией кислорода. По данным же УЗИ и гистологического исследования отличия опухолей были крайне незначительными.

Закключение. Пилотное исследование выявило возможности ОДТ в изучении закономерностей, характеризующих распределение оксигенированного и восстановленного гемоглобина и насыщение кислородом нормальной и опухолевой ткани молочной железы. Обнаруженная в злокачественных новообразованиях неравномерность распределения основных хромофоров может косвенным образом характеризовать такой важный для прогноза заболелания параметр, как наличие и уровень гипоксии опухоли, что позволит до начала лечения дополнить информацию, полученную при использовании стандартных методов визуализации (УЗИ и маммография).

ВЛИЯНИЕ КВЧ- И НЕКОГЕРЕНТНОГО ИМПУЛЬСНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА КЛЕТКИ КОСТНОГО МОЗГА КРЫС С ПЕРЕВИТЫМ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

А.А. Кирилов, С.В. Трифонова, В.В. Завалюева

В настоящее время изучение механизмов действия физико-химических факторов на организм в норме и при развитии патологических состояний является актуальной проблемой экспериментальной биологии, так как различные факторы используют при создании устройств биологического и медицинского назначения. Известно, что некоторые физико-химические воздействия имеют сходные механизмы действия, в которых важное значение приобретает активация или угнетение процессов свободно-радикального перекисного окисления. Представляют интерес исследования, посвященные изучению механизмов действия излучений крайне высокой частоты (КВЧ), а также некогерентного импульсного излучения (НИИ), на основе которых созданы и создаются устройства для коррекции организма в норме и при развитии патологических состояний.

Клеточная адгезия играет исключительно важную роль в процессах формирования и развития живых организмов в норме и при патологических

изменениях. В последние годы установлено, что опухолевые и стволовые клетки имеют ряд общих признаков. В частности, была показана экспрессия некоторых общих маркеров — Oct-4 и CD133 [1, 2]. Кроме того, клетки костного мозга, возможно, могут участвовать в формировании опухолей, способствуя миграции и адгезии злокачественных клеток [3].

Известно, что во время развития опухоли в тканях организма происходит нарушение окислительных процессов и баланса ингибиторов и антиоксидантов. Это выражается в нарушении динамического равновесия между выработкой и расходом ингибиторов и свободно-радикальными реакциями, происходящими при окислительных процессах [4].

Цель работы — исследование уровня свободно-радикальных процессов, митотического индекса и уровня адгезии клеток костного мозга беспородных крыс с перевитым раком молочной железы (РМК-1), подверженных воздействию излучения крайне высокой частоты и некогерентного импульсного излучения.

Материалы и методы. В задачи исследования входило определение уровня свободно-радикальных процессов, митотического индекса и уровня адгезии клеток костного мозга беспородных крыс

с перевитым RMK-1 и последующим воздействием KBЧ-излучения или НИИ.

Эксперимент проводился *in vivo*, животным прививали подкожно в районе правого бедра опухоль RMK-1. Штамм опухоли приобретен в Онкологическом научном центре им. Н.Н. Блохина РАНХ. Через 30 дней после прививки RMK-1 крыс подвергали облучению KBЧ или НИИ в течение 2 мин однократно и троекратно. После облучения крыс декапитуировали, отбирали костномозговую ткань и ресуспендировали в растворе Хенкса до концентрации 10^6 клеток на 1 мл. Контролем служили клетки костного мозга интактных животных и животных с перевитым RMK-1.

Интегральный уровень свободно-радикальных реакций определяли методом индуцированной хемилюминесценции. Для этого в измерительную кювету вносили 0,1 мл субстрата, 0,4 мл раствора сульфата железа (0,05 мМ), 0,4 мл раствора Хенкса и 0,1 мл перекиси водорода (3%). Кювета помещалась в кюветодержатель и переводилась в измерительную позицию. Измерения проводили на приборе БХЛ-6.

Уровень адгезии определяли следующим способом. Отбирали 1 мл взвеси костного мозга, приливали 4 мл среды ДМЕМ. Полученный объем вносили в чашку Петри диаметром 4 см. Инкубировали 24 ч при 37°C. Осторожно смывали средой неприлипшие клетки. Затем в течение 1 мин фиксировали метанолом и окрашивали. Подсчет клеток осуществляли при помощи микроскопа в 10 полях зрения.

Митотический индекс определяли отношением числа неделящихся клеток к числу делящихся в 10 полях зрения.

Обработка полученных данных осуществлялась с помощью стандартных пакетов программ «Excel», «Statistica v.6.0». Для определения достоверности различий использовались критерии Стьюдента, при непараметрическом распределении величин — критерии Вилкоксона—Манна—Уитни. Для всех видов анализа статистически значимыми считались

различия между значениями показателей на уровне $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Были получены следующие данные. Уровень адгезии клеток костного мозга интактных крыс по сравнению с ее значением у необрабатываемых животных с перевитым RMK-1 был выше в 1,4 раза (см. таблицу). При двухминутной обработке НИИ одно- и двукратно уровень адгезии клеток снизился по сравнению с контролем в 2,85 и 2,19 раза соответственно. При двухминутной обработке KBЧ одно- и двукратно уровень адгезии клеток снизился по сравнению с контролем в 3,21 и 3,56 раза соответственно. Все различия имели статистически значимый характер. При сравнении уровня адгезии клеток в группах обработанных крыс статистически значимое отличие отмечено в результатах троекратного воздействия НИИ и троекратного воздействия KBЧ. Уровень адгезии при обработке KBЧ ниже в 1,62 раза, чем при НИИ.

При оценке митотического индекса и уровня свободно-радикальной активности клеток костного мозга у всех животных с перевитым RMK-1, не подвергшихся обработке и при всех режимах обработки статистически значимых отличий от интактной группы не наблюдалось.

Заключение. Проведенное исследование позволяет предположить, что воздействие физическими факторами усугубляет процесс снижения адгезии клеток костного мозга крыс, вызванный опухолевым штаммом RMK-1. В то же время не выявлено влияния этого воздействия на изменение интегрального уровня свободно-радикальных реакций и митотического индекса клеток костного мозга.

Литература

1. Mei-Hui Tai, Chia-Cheng Chang, Olson L.K., Trosko J.E. Oct4 expression in adult human stem cells: evidence in support of the stem cell theory of carcinogenesis. *Carcinogenesis* doi:10.1093/carcin/bgh321.
2. Singh S.K., Hawkins C., Clarke I.D. et al. Identification

Изменение адгезии, митотического индекса и уровня свободно-радикальных реакций клеток костного мозга у крыс с перевитым RMK-1, после воздействия излучения KBЧ и НИИ

	Интактные животные	Крысы с перевитым RMK-1				
		Контроль	НИИ 1 раз по 2 мин	НИИ 3 раза по 2 мин	KBЧ 1 раз по 2 мин	KBЧ 3 раза по 2 мин
Адгезия	1609,5±119,8	1194,5±23,1*	594,0±41,7**	771,0±69,9**	527,0±156,2**	474,6±80,8**
Митотический индекс	5,62±0,59	4,64±0,25	4,71±0,4	4,42±0,48	4,28±0,42	4,91±0,5
Уровень свободно-радикальных реакций	5,67±0,54	4,62±0,28	4,69±0,37	4,5±0,38	4,7±0,28	5,0±0,2

* — статистически значимые отличия с группой интактных животных, $p \leq 0,05$;

+ — статистически значимые отличия с контрольной группой необработанных животных с перевитым RMK-1, $p \leq 0,05$.

- of human brain tumour initiating cells. *Nature* 2004; 432: 396—401.
3. Lyden D. *et al.* Impaired recruitment of bone-marrow-derived endothelial and hematopoietic precursor cells blocks tumour angiogenesis and growth. *Nature Med* 2001; 7: 1194—1201.
 4. Иванова И.П. Изучение интегрального показателя

перекисного окисления липидов животных-опухоленосителей при воздействии импульсного высокоэнергетического разряда. В кн.: Труды междунар. конф. «Высокоинтенсивные физические факторы в биологии, медицине, сельском хозяйстве и экологии»; Саров, 26—28 апреля 2004 г. Саров, 2004; с. 217—226.