В.Ю. Тегза¹, О.П. Резункова², Л.И. Корытова²

Эффективность величины тиол-дисульфидного коэффициента для анализа антиоксидантной системы онкологических больных

¹Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

²Российский научный центр радиологии и хирургических технологий, Санкт-Петербург

Резюме. Исследовано состояние антиоксидантной системы у 39 пациентов с немелкоклеточным раком легкого в процессе лучевой терапии и при сочетании лучевой терапии и крайне высокочастотной терапии. Установлено, что опухолевый процесс способствовал снижению концентрации сульфидрильных групп в периферической крови, повышению концентрации дисульфидных групп и уменьшению величины тиол-дисульфидного коэффициента у 21/39 больных немелкоклеточным раком легкого. Лучевая терапия в суммарной очаговой дозе 55 Гр еще больше снижала тиол-дисульфидный коэффициент у всех пациентов. Присоединение крайне высокочастотной терапии приводило к постепенному возрастанию тиол-дисульфидного коэффициента, хотя и не достигающего уровня группы контроля. Выявлено, что тиол-дисульфидный коэффициент менее 1,1 соответствовал тяжести течения заболевания и снижению выживаемости у больных со злокачественными новообразованиями.

Ключевые слова: крайне высокочастотная терапия, лучевая терапия, онкология, антиоксидантная система, окислительный стресс, тиол-дисульфидный коэффициент.

Введение. Традиционные методы лечения онкологических заболеваний имеют некоторые ограничения, несмотря на огромные достижения в хирургии, химиотерапии и использование самой совершенной радиационной техники. Стремление к достижению максимальной деструкции опухолей неизбежно приводит к развитию тяжелых побочных реакций, резко ограничивающих эффективность лечения и снижающих качество жизни больного.

Воздействие разнообразных физических, химических, биологических и социальных факторов, инициирующих усиленное образование в клетках и тканях свободных радикалов и перекисных соединений вызывает в организме «оксидативный стресс». Последний через активацию симпатико-адреналовой системы приводит к вазоконстрикции, повышению свертываемости крови, адгезии форменных элементов крови, особенно тромбоцитов; способствует высвобождению простагландина, а главное, тромбосана, обладающего вазоконстриктивными свойствами, и, как следствие, нарушается микроциркуляция и активность кинин-калликреиновой системы [2, 4, 6].

Онкологические заболевания, а также современные агрессивные методы их лечения являются типичными индукторами окислительного стресса, поставщиками свободных радикалов и ингибиторами эндогенных антиоксидантных систем (АОС) [2, 4, 6]. Исключительно важной функциональной частью АОС, которая превращает радикалы в малоактивные продукты, прерывает цепные реакции, разрушает

перекиси, является ее тиол-дисульфидное звено [4, 6]. В этой связи идет поиск эффективных путей, ограничивающих и блокирующих образование свободных радикалов в организме человека. Стандартно используемые антиоксиданты в малых дозах недостаточно эффективны, а увеличение дозировок имеет ограничения, обусловленные повышенной нагрузкой на органы выведения исходных токсических воздействий. С этих позиций нетрадиционные методы коррекции АОС представляют определенный интерес [1, 3].

Крайне высокочастотная (КВЧ) терапия была предложена, как комплементарная терапия при системном лечении немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ) с целью усиления процессов регенерации и уменьшения числа тяжелых осложнений [3]. В настоящее время уже получены данные, позволяющие утверждать, что в основе терапевтического действия электромагнитного миллиметрового диапазона (КВЧ) лежит не только его способность лимитировать развитие стресс-реакции [1, 3, 8], но и активация тиол-дисульфидного обмена [5, 7].

Цель исследования. Изучение влияния опухолевого процесса и дистанционной лучевой терапии на тиол-дисульфидное звено антиокислительной системы больных НМРЛ и возможности коррекции этих процессов с помощью КВЧ-терапии.

Материалы и методы. Обследованы 39 больных НМРЛ в процессе комбинированного лечения,

включающего оперативное удаление опухоли и дистанционную лучевую терапию (во всех случаях имела место морфологическая верификация диагнозов): 33 мужчины в возрасте от 36 до 71 года (средний возраст $57,6 \pm 10,8$ лет) и 6 женщин в возрасте от 59 до 68 лет (средний возраст $61,6 \pm 5,7$ лет). Контрольная группа состояла из 24 практически здоровых лиц: 7 мужчин в возрасте от 44 до 63 лет (средний возраст $55,6 \pm 7,8$ лет) и 17 женщин в возрасте от 41 до 62 лет ($58,6 \pm 9,7$ лет).

Послеоперационную лучевую терапию проводили спустя 4–6 недель от операционного лечения на линейном ускорителе электронов «SL-20», производства компании «Philips», с граничной энергией 18 МэВ, с двух противоположных полей, ритм облучения 2:1 (спереди : сзади), ежедневно 5 раз в неделю, с перерывом в 2 дня в конце недели, доза за фракцию 1,25 Гр по 2 раза в день, с дневным интервалом 4 ч, до достижения суммарной очаговой дозы (СОД) 55 Гр. Из 39 больных НМРЛ, получавших комбинированное лечение, 22 пациента дополнительно получали КВЧ-терапию, 17 пациентов получали только комбинированное лечение, специфическое для больных НМРЛ.

КВЧ-терапия проводилась аппаратом «Явь-1» с частотой 42,25 ГГц ($\lambda=7,1$ мм), с падающей мощностью на раскрыве рупора 10 мВт/см² весь период лечения. Курс лечения состоял в среднем из 10–15 процедур. Для реализации гемостимулирующего эффекта облучалась область мечевидного отростка грудины в течение 15 мин, в первой половине дня. Пробы крови у пациентов забирали 7 раз за весь период лечения из локтевой вены в количестве 1 мл: при поступлении (через 3–6 недель после операции для НМРЛ), через 5 дней после начала КВЧ-терапии, в начале лучевой терапии (ЛТ), на 5, 10 и 15 дней ЛТ, при достижении суммарной очаговой дозы.

Анализ результатов лечения осуществлялся путем исследования периферической крови и оценки АОС у больных. АОС оценивали по общему или суммарному содержанию сульфгидрильных (-SH-) и дисульфидных (-S-S-) групп амперометрическим титрованием нитратом серебра гемолизата венозной крови. Одновременно определяли концентрацию -SH- и -S-S- групп в белковой и небелковой фракциях путем осаждения белков метафосфорной кислотой с последующим центрифугированием, вычисляли тиол-дисульфидный коэффициент (ТДК) как отношение -SH- к -SS- по методике В.В. Соколова [6]. Исследования проводились при поступлении в клинику, через каждые 5 дней и по окончании курса ЛТ. Все больные каждые 3 месяца проходили клинико-рентгенологический контроль.

Проведено сравнение показателей тиол-дисульфидной системы у больных НМРЛ после оперативного лечения и у доноров с помощью двухвыборочного t-теста с одинаковыми дисперсиями.

Результаты и их обсуждение. Установлено, что средняя продолжительность жизни наблюдаемых больных составила $28,04 \pm 1,8$ месяцев, средний период до начала прогрессирования процесса и рецидива опухоли $28,4 \pm 0,6$ месяцев, в 3 месяца выживаемость 98,9%, в 6 месяцев – 95,5%, в 12 месяцев – 89,2%, в 18 месяцев – 83,0%, в 24 месяца – 75,5%. Средняя продолжительность жизни больных контрольной группы $21,8 \pm 0,76$ месяцев ($p < 0,05$), фактическая выживаемость в 3 месяца 89,8%, в 6 месяцев 79,2%, в 12 месяцев 68,1%, в 18 месяцев 58,2%, в 24 месяца 52,7%.

Показано, что с увеличением возраста пациентов имеет место тенденция к снижению ТДК, что свидетельствует о снижении активности системы антиоксидантной защиты. В таблице 1 отражены средние значения -SH-, -SS-, ТДК крови больных и доноров. Выявлено, что в исходном состоянии в крови доноров средние значения -SH- групп у женщин – 8,42 мкМ/л, у мужчин 8,24 мкМ/л, ($p < 0,05$), а -SS- групп у женщин – 3,18 мкМ/л, у мужчин – 3,30 мкМ/л. Средние значения ТДК у женщин – 2,65, у мужчин – 2,50. Резкое снижение величины ТДК у больных НМРЛ является признаком истощения антиоксидантных резервов вследствие развития «окислительного стресса». Вместе с тем, отмечено, что у больных НМРЛ при увеличении длительности послеоперационного периода проявляется тенденция к возрастанию ТДК, что свидетельствует о постепенном спонтанном восстановлении мощности системы антиоксидантной защиты.

Таблица 1

Содержания -SH-, -S-S- групп и ТДК в крови больных НМРЛ и доноров, мМ/л

Показатели тиол-дисульфидной системы	Доноры, n=24	Больные НМРЛ, n=39
-SH-	$8,48 \pm 0,09$	$7,19 \pm 0,11^*$
-SS-	$3,26 \pm 0,05$	$5,21 \pm 0,07^*$
-SH-/-SS-	$2,6 \pm 0,07$	$1,4 \pm 0,08^*$

Примечание: * – $p < 0,05$.

В таблицах 2, 3 и 4 показана динамика концентраций сульфгидрильных, дисульфидных групп и величины ТДК в процессе лучевой терапии до достижения СОД.

При поступлении у больных и доноров среднее суммарное содержание -SH- групп в крови составляло 6,77 мМ/л и 7,77 мМ/л соответственно, средние -SS- групп 5,2 мМ/л и 5,32 мМ/л соответственно, средние величины ТДК 1,3 и 1,46 соответственно. Через 5 дней после проведения КВЧ-терапии соотношение этих показателей в группах начинает меняться. В группе получающих КВЧ-терапию средние значения -SH- 7,63 мМ/л, у больных, не получающих

Таблица 2

Концентрация сульфгидрильных групп в крови больных НМРЛ, после проведенного оперативного лечения в процессе получения ЛТ, мМ/л

Терапия	-SH-	Сроки наблюдения				
		При поступлении	Через 5 дней	Начало ЛТ	15 день ЛТ	При достижении СОД
Без КВЧ-терапии	Белк.	6,70±0,06	6,70±0,06	6,38±0,06	7,00±0,07	6,40±0,06
	Н\б	1,07±0,05	1,12±0,05	1,14±0,05	1,02±0,05	1,11±0,05
	Сумм.	7,77±0,07	7,82±0,07	7,52±0,08	8,02±0,08	7,51±0,07
С КВЧ-терапией	Белк.	5,83±0,05*	6,54±0,06	6,82±0,06*	6,83±0,06*	6,85±0,06*
	Н\б	0,94±0,05*	1,09±0,05	1,08±0,05*	1,12±0,05*	1,15±0,05
	Сумм.	6,77±0,06*	7,63±0,07	7,90±0,07*	7,95±0,07	8,00±0,08*

Примечание: * – p<0,05.

Таблица 3

Концентрация дисульфидных групп в крови больных НМРЛ, после проведенного оперативного лечения в процессе получения ЛТ, мМ/л

Терапия	-SS-	Сроки наблюдения				
		При поступлении	Через 5 дней	Начало ЛТ	15 день ЛТ	При достижении СОД
Без КВЧ-терапии	Белк.	4,60±0,09	4,65±0,07	4,84±0,08	4,39±0,08	5,36±0,08
	Н\б	0,72±0,05	0,74±0,05	0,77±0,05	0,73±0,05	0,82±0,05
	Сумм.	5,32±0,09	5,39±0,07	5,61±0,08	5,12±0,08	6,18±0,07
С КВЧ-терапией	Белк.	4,41±0,09	3,94±0,08*	3,70±0,07*	2,93±0,07*	3,04±0,07*
	Н\б	0,79±0,05	0,65±0,04*	0,57±0,03*	0,55±0,03*	0,57±0,03*
	Сумм.	5,20±0,09	4,59±0,08*	4,27±0,07*	3,48±0,07*	3,61±0,08*

Примечание: * – p<0,05.

Таблица 4

Значения коэффициента ТДК в крови больных НМРЛ, после проведенного оперативного лечения, в процессе получения ЛТ

Терапия	ТДК	Сроки наблюдения				
		При поступлении	Через 5 дней	Начало ЛТ	15 день ЛТ	При достижении СОД
Без КВЧ	Белк.	1,46±0,11	1,44±0,10	1,32±0,09	1,59±0,09	1,19±0,09
С КВЧ	Белк.	1,32±0,09*	1,66±0,10*	1,84±0,11*	2,33±0,12*	2,25±0,10*
Без КВЧ	Н\б	1,49±0,12	1,51±0,09	1,48±0,07	1,40±0,09	1,35±0,07
С КВЧ	Н\б	1,19±0,09*	1,66±0,09*	1,96±0,09*	2,04±0,09*	2,02±0,09*
Без КВЧ	Сумм	1,46±0,07	1,45±0,08	1,34±0,08	1,57±0,08	1,22±0,08
С КВЧ	Сумм	1,30±0,09*	1,66±0,09*	1,85±0,09*	2,23±0,09*	2,22±0,09*

Примечание: * – p<0,05.

КВЧ-терапию – 7,82 мМ/л, средние значения -SS- 4,59 мМ/л и 5,39 мМ/л соответственно, средние значения ТДК – 1,66 и 1,45 соответственно. После начала дистанционной лучевой терапии средние значения -SH- увеличиваются у больных, получающих КВЧ-терапию, и составляют 7,90 мМ/л, в то время как у больных, не получающих КВЧ-терапию, – 7,52 мМ/л, дисульфидные группы – 4,27 мМ/л и 5,61 мМ/л соответственно, средние значения ТДК – 1,85 и 1,34 соответственно. На 15 день лучевой терапии значения -SH- средние 7,95 мМ/л и 8,02 мМ/л соответственно, -SS- 3,48 мМ/л и 5,12 мМ/л соответственно, коэффициента ТДК 2,28 и 1,57 соответственно. Последние пробы крови выполнены при достижении СОД 55 Гр, средние показатели -SH- 8,00 мМ/л и 7,51 мМ/л соответственно, -SS- групп 3,61 мМ/л и 6,18 мМ/л соответственно, коэффициент ТДК в среднем 2,22 и 1,22 соответственно.

Учитывая то, что у больных НМРЛ патологическим воздействием являются опухоль + «оперативный стресс» + лучевая терапия, образование кислородных радикалов в клетках и тканях резко усиливается. Так, у больных раком легкого, перенесших хирургический стресс, снижена адаптационная реакция организма. По показателям исходных значений состояния ТДС видно, что операционная травма вызвала серьезные метаболические сдвиги, которые практически находятся на нижней границе возможного. У больных, которые в процессе динамического наблюдения умерли, величина ТДК не подымалась выше 1,24, тогда как у живых нижняя граница ТДК составила – 1,43 ($p < 0,05$). В более отдаленные временные интервалы после операции замечена тенденция к нормализации состояния тиол-дисульфидной системы. Существенное различие средних значений содержания в крови -SH- и -S-S- групп у больных в процессе ЛТ свидетельствует об активации свободнорадикального окисления при онкологических заболеваниях и в послеоперационном периоде. Применение КВЧ-терапии в профилактическом и терапевтическом режиме значительно сдвигает тиол-дисульфидное равновесие в сторону восстановления и способствует прогрессирующему увеличению ТДК.

В целом, у больных, получивших КВЧ-терапию на фоне ЛТ, значение ТДК выше, чем у больных, не получавших КВЧ-терапию, у которых состояние ТДС смещено в сторону усиления реакций окисления. Полученные результаты подтверждают литературные данные [3, 4], согласно которым, в крови больных онкологическим заболеванием и под воздействием оперативного стресса, а также в процессе специфического лечения нарушена активность системы антиоксидантной защиты.

После применения КВЧ-терапии в организме больного происходят существенные изменения: ТДК у больных НМРЛ, пролеченных комбинированным методом и получивших СОД 55 Гр, находился в пределах 2,22, что достаточно близко к значени-

ям ТДК практически здоровых доноров – 2,6. Эти данные служат обоснованием целесообразности использования КВЧ-терапии до начала ЛТ. Уже через 3 сеанса лечения регистрировалось смещение тиол-дисульфидного соотношения в сторону восстановления, что доказывает профилактические свойства КВЧ. Применение данного вида воздействия достоверно повышает активность АОС у больных во время воздействия ионизирующего излучения.

Выводы

Снижение концентрации -SH-групп, повышение концентрации -S-S-групп в крови больных, прооперированных по поводу НМРЛ, и, как следствие, уменьшение величины ТДК позволяют верифицировать развитие у них «окислительного стресса», снижение защитной мощности АОС и, следовательно, снижение неспецифической резистентности организма.

В процессе проведения ЛТ окислительный сдвиг ТДК остается на первоначальном уровне или незначительно изменяется, тогда как одновременное с лучевым воздействием применение КВЧ-терапии приводит к постепенному увеличению концентрации -SH-групп, уменьшению содержания -S-S-групп, возрастанию ТДК и в конечном итоге – к нормализации окислительно-восстановительного состояния тиол-дисульфидного звена АОС.

Представление о месте и роли антиоксидантной защиты и ее функционально важного компонента тиол-дисульфидной системы в биохимическом механизме неспецифической резистентности и адаптации к вредным воздействиям внешней среды имеют конкретные перспективы в практическом здравоохранении, в большом разделе паллиативной медицины.

Метод КВЧ-воздействия не обременителен для больного и персонала, прост в исполнении, не требует дополнительных затрат, легко воспроизводится, может многократно повторяться на всех этапах специфического лечения онкологических больных.

Литература

1. Бецкий, О.В. Миллиметровые волны и живые системы / О.В. Бецкий, В.В. Кислов, Н.Н. Лебедева // М.: Сайнс-пресс. – 2004. – 272 с.
2. Гаркави, Л.М. Адаптационные реакции и резистентность организма / Л.М. Гаркави, Е.Б. Квакина, М.А. Уколова; отв. ред. д.м.н. А.Б. Коган. – Ростов-на-Дону: Ростовский ун-т. 1990. – 223 с.
3. Корицова, Л.И. Показания к использованию и клиническому применению КВЧ-терапии при лучевом лечении онкологических больных / Л.И. Корицова, С.Д. Иванов, О.П. Резункова // Пособие для врачей. – СПб.: ЦНИРРИ МЗ РФ – 1995. – 11 с.
4. Корицова, Л.И. Онкология, КВЧ и тиол-дисульфидная антиоксидантная система организма / Л.И. Корицова, Е.Ю. Бусина, О.П. Резункова // Миллиметровые волны в биологии и медицине. – М.: – 2004. – № 1. – С. 40–47.
5. Курило, А.И. Состояние тиол-дисульфидной антиоксидантной системы организма в радиологическом эксперименте / А.И. Курило, О.П. Резункова // Межд. вестн. ветеринарии – 2004. – № 1. – С. 107–109.

6. Соколовский, В.В. Тиол-дисульфидное соотношение крови как показатель состояния неспецифической резистентности организма / В.В. Соколовский. – СПб., – 1996. – 30 с.
7. Резункова, О.П. Тиол-дисульфидное соотношение в крови как ранний диагностический показатель радиационного повреждения организма / О.П. Резункова // Вопр. нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2011. – № 2. – С. 54–56.
8. Чуюн, Е.Н. Физиологические механизмы биологических эффектов низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ. / Е.Н. Чуюн [и др.] // Симферополь, – 2003. – 448 с.

V.Yu. Tegza, O.P. Rezunkova, L.I. Korytova

**Efficiency of thiol-disulphide coefficient
for analyzing antioxidant system in oncological patients**

Abstract. Antioxidant system was studied in 39 patients with non-small cell lung cancer undergoing radiotherapy and combination of radiotherapy and the extremely high-frequency therapy. Tumor process lead to decrease of concentration of the sulfhydryl group in peripheral blood, increase of disulphide groups and decrease in thiol-disulphide coefficient for 21/39 patients suffering from non-small cell lung cancer. Radiotherapy with a site dose no more than 55 Gy caused further decrease of thiol-disulphide coefficient in all patients. Adding the extremely high-frequency therapy caused gradual increase of thiol-disulphide coefficient, even though it did not reach control group level. Thiol-disulphide coefficient less than 1.1 corresponded with the disease severity and reduction of patients lifespan.

Key words: the high-frequency therapy, radiotherapy, oncology, antioxidant system, oxidizing stress, thiol-disulphide coefficient.

Контактный телефон: 8-921-390-18-32, e-mail: ararog@mail.ru