

УДК 616.311-006.6-085:615.277.3/837.3:616.15-076-091.8

**ИЗМЕНЕНИЕ МОРФОСТРУКТУРЫ СЫВОРОТКИ КРОВИ БОЛЬНЫХ МЕСТНОРАСПРОСТРАНЕННЫМ РАКОМ СЛИЗИСТОЙ ПОЛОСТИ РТА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ЛЕЧЕНИЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СОНОДИНАМИЧЕСКОЙ ХИМИОТЕРАПИИ**

**Розенко Л.Я., Крохмаль Ю.Н., Шихлярова А.И., Комарова Е.Ф., Протасова Т.П., Куркина Т.А., Шейко Е.А.**

*ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Ростов-на-Дону, e-mail: katitako@gmail.com*

При исследовании морфоструктуры 150 твердотельных образцов сыворотки крови у больных местнораспространенным раком слизистой оболочки полости рта (РСРР) было установлено, что проведение лучевой терапии, дополненной локальной сонодинамической химиотерапией (СДХ) в среднечастотном диапазоне (частота 0,88 МГц, интенсивность 0-4-1,0 Вт/см<sup>2</sup>) с 5 мг сухого платидиума, оказывает нормализующее влияние на процессы самоорганизации биожидкости в случаях выраженной регрессионной динамики опухоли. При этом наблюдается восстановление системного ритма круговых концентрационных волн и повышение его устойчивости, смена патологических типов фаций (иррадиального и циркулярного) на морфотипы с сохранением радиальной симметрии. Полученные данные указывают на опосредованные гомеостатические эффекты СДХ, подавляющие рост опухоли и снижающие ее негативное влияние на жидкие среды организма.

**Ключевые слова:** морфология крови, рак слизистой полости рта, лучевое лечение, локальная химиотерапия, ультразвук

**CHANGES IN BLOOD SERUM MORPHOSTRUCTURE IN PATIENTS WITH LOCALLY ADVANCED CANCER OF THE ORAL MUCOSA IN DEPENDENCE ON THE EFFECTIVENESS OF ANTITUMOR TREATMENT WITH SONODYNAMIC CHEMOTHERAPY**

**Rozenko L.Ya., Krokhmal Yu.N., Shikhlyarova A.I., Komarova E.F., Protasova T.P., Kurkina T.A., Sheiko E.A.**

*Federal State Budget Institution «Rostov research oncologic institute» Ministry of Health of the Russian Federation, Rostov-on-Don, e-mail: katitako@gmail.com*

Analysis of the morphostructure of 150 solid blood serum samples of patients with locally advanced cancer of the oral mucosa (COM) showed that radiotherapy in combination with local sonodynamic chemotherapy (SDC) in the mid-range (frequency of 0.88 MHz, the intensity 0-4-1,0 W / cm<sup>2</sup>) of 5 mg dry platidium normalized the processes of the biofluid self-organization in marked regressive tumor dynamics. This effect was accompanied by restoration and increased stability of systemic rhythm of circular concentration waves and the shift of pathological facies types (irradial and circular) to the morphotypes with maintained radial symmetry. The results indicate mediated homeostatic effects of SDC inhibiting tumor growth and decreasing its negative impact on the body fluids.

**Keywords:** blood morphology, oral mucosa cancer, radiation treatment, local chemotherapy, ultrasound

В настоящее время понятие «функциональная морфология» определилось как одно из перспективных в биологии и медицине. Визуализация надмолекулярных структур биожидкостей в момент перехода динамического состояния в статическое отличается высокой степенью информативности [5]. Системы биологических жидкостей в организме (кровь, ликвор, слюна, лимфа) это не только средства биокommunikации и связи, но и управления и обеспечения всех жизненных процессов. Известно, что входящие в их состав аминокислоты, пептиды, белки, ферменты и т.д. обладают огромными структурными резервами для образования внутри- и межмолекулярных связей, как основы самоорганизации в различных ее формах.

При формировании текстуры фации сыворотки крови в норме закономерно происходит упорядоченное пространственное расположение структур солей и белков. Формирование через равные промежутки окружности фации радиальных трещин, образующих на концах аркады, представляет собой сложную систему I уровня самоорганизации. Дальнейший ход событий связан с появлением поперечных трещин, дающих начало формирования секторов, внутри которых развиваются структуры II уровня самоорганизации – появляются отдельные, представляющие собой участки секторов, содержащие равномерные воронкообразные солевые агрегации – конкреции, окруженные перифокальным слоем белков.

При развитии патологических процессов в фации сыворотки крови грубо нарушаются системные (трещины, сектора) и подсистемные (отдельности и конкреции) признаки самоорганизации. Палитра системных и локальных диагностических маркеров обеспечивает уточненное интегральное представление о состоянии внутренней среды, функциональных систем, процессов самоорганизации на уровне организма. Кроме этого представляет интерес выявление маркеров, связанных с онкопатологией, а также выраженностью эффекта лечения. Ранее нами было показано изменение структурной организации сыворотки крови больных раком легкого, саркомами мягких тканей, а также возможность использования морфоструктурные нарушения биологических жидкостей как критериев эффективности противоопухолевой терапии при глиомах головного мозга, раке яичников и т.д. [1, 6-8]. Особое внимание уделяется морфологическим критериям биожидкостей при комплексном лечении рака с использованием физических факторов, повышающих доступность химиопрепаратов в опухоль [2].

В данном исследовании **целью работы** было изучение морфологической структуры фаций сыворотки крови у больных местнораспространенным РСПР как критерия эффективности химиолучевой терапии с включением модифицированной ультразвуком локальной химиотерапии.

#### Материалы и методы исследования

Пациенты местно распространенным РСПР  $T_{2-4}N_{0-2}M_0$  были разделены в зависимости от варианта лечения на основную (31 больных) и контрольную (30 больных) группы. По возрасту и основным клиническим параметрам группы были сопоставимы. Больным обеих групп проводилась ДГТ с традиционно расщепленным курсом: разовая очаговая доза (РОД) в 2,4 Гр. по 1,2 Гр с интервалом между ними 5 часов. Пациентам основной группы при ДГТ в середине интервала между отдельными фракциями РОД на первичный очаг опухоли через день осуществлялась локальная сонодинамическая химиотерапия (СДХ) с использованием среднечастотного УЗВ (частота 0,88 МГц,  $I=0,4-1,0 \text{ Вт/см}^2$ , время экспозиции 5-10 мин) с 5 мг сухого платидиума, смешанного «ex tempore» с 0,25 см<sup>3</sup> стоматологического солкосерилгеля [9]. На первичный очаг на 1 этапе подводилась суммарная очаговая доза 40 изоГр.

Нами были оценены отличительные признаки свободного кристаллогенеза солей и белков сыворотки крови и формирование «паттерна» фации в зависимости от эффекта лечения. Для получения твердотельных образцов сыворотки крови осуществляли забор венозной крови в объеме 2 см<sup>3</sup>, центрифугированием отделяли клеточные элементы и полученную биожидкость наносили на предметное стекло в объеме 10 мкл. Процесс дегидратации длился 18–22 часа при температуре 22–24 °С и влажность 65–70% в открытых условиях без прямых потоков воздуха. Оцен-

ку морфоструктуры твердотельной пленки сыворотки осуществляли с помощью световой, темновой и поляризационной микроскопии на микроскопе «Leica» DMLS2 с увеличением от x20 до x90.

#### Результаты исследования и их обсуждение

При изучении текстуры фаций сыворотки крови больных РСПР, выявились следующие особенности. До начала лечения и при неэффективном лечении, наблюдался полный сбой процессов саморегуляции, начиная с увеличения частоты в 6,5 раза аномалий или полного отсутствия ритма круговых концентрационных волн по отношению к частоте выявления полного или частично сохраненного ритма (таблица). В случаях сохранения роста опухоли, несмотря на проводимое лечение, этот процесс усугублялся: показатели аномалий концентрационных волн и их полного отсутствия достигали в сумме 100%.

Сбой I-го уровня самоорганизации проявлялся, прежде всего, в нарушении линии окружности, зигзагообразных натеках и гребнях, слияния аутоволн и аннигиляцией, что наиболее четко выявлялось в краевой и промежуточной зонах фации. Такие нарушения были патологически устойчивы, т.е. выявлялись несмотря на длительное оставленное время исследования того же образца сыворотки крови (через сутки).

Аналогичные изменения наблюдались при стабилизации роста опухоли. В общей выборке в исходном состоянии не встречалось физиологически устойчивых типов фаций. Напротив, доминирование патологически устойчивых изменений свидетельствовало о хроническом десинхронозе и глубоких нарушениях системных взаимосвязей в результате сохранения влияния опухоли и неэффективности химиолучевых воздействий.

Особое внимание обращало изменение морфотипов фаций. Среди них преобладали патологические типы – иррадиальный (около 60%) и циркулярный – (около 40%). Наблюдалось хаотичное расположение тонких изогнутых или расширенных трещин, заполненных детритом, редкие полиморфные конкреции и отдельности, наполненные оптически плотными липопротеиновыми включениями отдельности (рис. 1, а–в).

При незначительном стабилизирующем эффекте лечения обнаруживалось появление макрокристаллов белка, демонстрирующих явление неравновесной термодинамики – самосборку (self-assembly) молекулярных кластерных пленок [3, 4]. Идентифицировались крупные стеклоподобные структуры, напоминающие конус, образованный повторяющимися самоподобными складками, идущие к верхушке кристалла, что указывало на их фрактальные свойства.

Системные и подсистемные признаки самоорганизации сыворотки крови у больных раком слизистой полости рта в зависимости от вида лечения (%)

Основные признаки структурной организации фаций сыворотки крови	До лечения n = 30		После проведенного лечения							
			Полная резорбция 100%		Частичная регрессия ≥ 50%		Стабилизация Роста < 50- ≥ 25%		Прогрессия < 25%	
	Основная группа n = 15	Контрольная группа n = 15	Основная группа n = 15	Контрольная группа n = 15	Основная группа n = 15	Контрольная группа n = 15	Основная группа n = 15	Контрольная группа n = 15	Основная группа n = 15	Контрольная группа n = 15
I уровень самоорганизации. Системный ритм круговых концентрационных волн, %										
Сохранен	5,3	5,5	22,5 <sup>1</sup>	7,1	6,5 <sup>2</sup>	1,3	0,0	0,0	0,0	0,0
Частично сохранен	7,3	6,7	49,5 <sup>1</sup>	12,5	19,5 <sup>1</sup>	4,9	0,0	0,0	0,0	0,0
Аномалии ритма	33,5	34,8	27,0 <sup>1</sup>	51,2	61,5 <sup>1</sup>	78,5	69,5 <sup>1,2</sup>	61,8	0,0	78,5
Отсутствие ритма	48,6	53,0	0,0	29,2	12,5	15,3	30,5 <sup>2</sup>	38,2	0,0	21,5
Устойчивость системного ритма, %										
Физиологически устойчивый	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Физиологически неустойчивый	0,0	0,0	98,5 <sup>1</sup>	13,7	10,3 <sup>1</sup>	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0
Патологически устойчивый	51,5	53,2	12,5 <sup>1</sup>	36,9	47,5	59,1	53,5 <sup>2</sup>	77,5	0,0	59,0
Патологически неустойчивый	48,5	46,8	39,0	49,4	42,4	40,9	46,5 <sup>1</sup>	22,5	0,0	41,0
Морфотипы фаций, %										
Радиальный	0,0	0,0	23,5 <sup>1</sup>	0,0	3,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Частично радиальный	1,5	1,4	49,5 <sup>1</sup>	11,0	36,5 <sup>1</sup>	6,5	3,5 <sup>2</sup>	0,0	0,0	0,0
Иррадиальный	58,3	57,9	21,0 <sup>1</sup>	49,5	31,0 <sup>1</sup>	51,7	53,5 <sup>2</sup>	46,5	0,0	58,5
Циркулярный	37,2	35,4	6,0 <sup>1</sup>	38,0	27,5 <sup>1</sup>	36,8	43,0 <sup>2</sup>	41,5	0,0	40,5
Двойная фация	3,0	2,5	0,0	6,5	1,5 <sup>1</sup>	5,0	0,0	12,0	0,0	1,0

Примечания. Различия показателей достоверны: 1 – между значениями основной и контрольной групп (p < 0,05); 2 – между значениями при полной резорбции опухоли, частичной и стабилизацией роста (p < 0,05).

Анализ событий, развивающихся при клиновидной дегидратации сыворотки крови у больных раком слизистой ротовой полости при полной регрессии опухоли, выявил альтернативный характер самоорганизации биожидкости. Так, частота сохраненного и частично сохраненного системного ритма концентрационных волн увеличилась по отношению к исходному состоянию соответственно в 4,4 и 6,8 раз и составила 73% всей выборки (таблица). Этому соответствовала частота снижения почти в 3 раза аномальных дисконплементарных аутоволновых процессов I уровня самоорганизации. При полной регрессии опухоли во всех случаях регистрировались ауторитмы концентрационных волн,

а при частичной регрессии их появление отмечалось в 3,9 раза реже, чем в исходном состоянии.

Существенно изменились пропорции показателей устойчивости системного ритма. При полной регрессии опухоли частота выявления физиологически неустойчивого типа увеличилась с нуля до 48,5% случаев. В случаях частичной регрессии опухоли показатели формирования физиологического системного ритма с неустойчивым характером встречались в 4,7 раз реже, а физиологически устойчивый не отмечался ни в одном случае независимо от эффекта лечения.

По-видимому, доминирование синхронизированных ритмов комплементарных

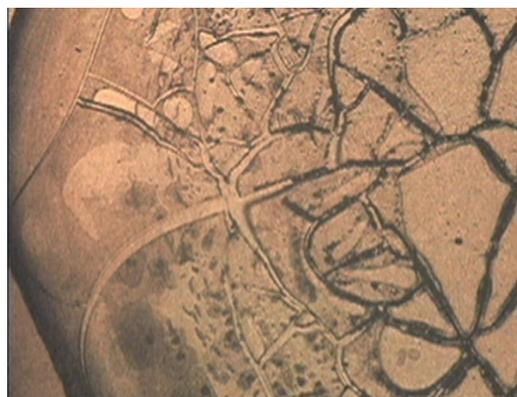
соединений белка (преимущественно, альбумина) и солей определило формирование полноценных радиальных трещин, равномерно делящих фацию на сектора (рис. 2, а, б). В результате, при выраженной и полной регрессии опухоли ротовой полости частота выявления радиального нормотипа фации сыворотки крови увеличилась по сравнению с исходным состоянием, а также прогрессией и стабилизацией роста с нуля до 23,5%. При частичной регрессии эти показатели были в 6,7 раза меньше. Максимального уровня достигли показатели встречаемости частично-радиальных морфотипов фаций сыворотки крови у больных с полной регрессией опухоли ротовой полости. По частоте встречаемости патологических типов фаций (иррадиального и циркулярного) показатели

при частичной регрессии опухоли были в 1,5 и 4,6 раз соответственно выше, чем при полной резорбции (таблица).

В условиях полной или частичной резорбции злокачественной опухоли ротовой полости при восстановлении I уровня самоорганизации и дифференцировке морфотипов фаций с преобладанием нормотипов (частично-радиальный и радиальный – в сумме 73%) характер формирования системных и подсистемных признаков II уровня самоорганизации отличался неполным восстановлением структуры отдельностей и конкреций. Вместе с тем, при полной регрессии опухоли можно было наблюдать и развитие между радиальными трещинами системы мелких поперечных трещин, которые образовывали множество отдельностей.



а

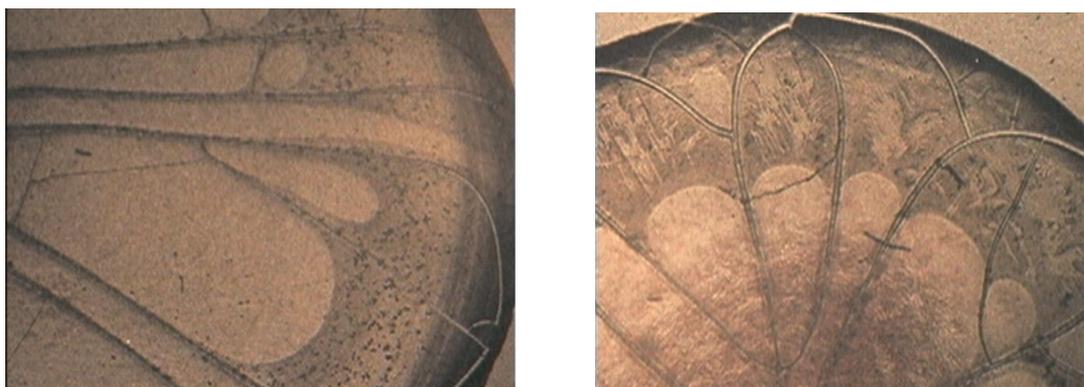


б



в

Рис. 1. Фрагменты фаций сыворотки крови у больных с местно-распространенным раком полости рта: а – иррадиальный тип фаций, отсутствие ауторитмов концентрационных круговых волн; б – образование хаотичной сети трещин с заполнением детритными массами; в – мелкие или укрупненные полиморфные конкреции, обилие токсических «бляшек» и структур типа «листа». Увеличение x20, x40, x90



а

б

*Рис. 2. Фрагменты фаций сыворотки крови у больных местно-распространенным раком ротовой полости при регрессии опухоли: а – выраженная радиальная симметрия трещин, крупные полиморфные отдельности и конкреции, б – восстановление системной самоорганизации фации. Увеличение  $\times 20$*

Сравнительный анализ показателей в группах в зависимости от проведенного лечения показал, что при использовании СДХ в случаях регрессии опухоли число нормализованных фаций превышало в 3,7 раза показатель в контрольной группе (таблица). При частичной регрессии опухоли преимущество показателей I уровня самоорганизации при локальном воздействии УЗ и цитостатика сохранялось, в то время как при неэффективном воздействии регистрировалась утрата системы круговых волн. Межгрупповое сравнение структуры морфотипов фаций свидетельствовало о том, что, несмотря на достижение эффекта регрессии опухоли, у ряда больных контрольной группы структурирования фаций по радиальному типу не происходит. Напротив, при использовании в ходе лечения локальной УЗ-модифицированной химиотерапии отмечено формирование нормотипов с радиальной и частично-радиальной симметрией. Реципрокность изменения морфотипов фаций в зависимости от вида лечения хорошо демонстрирует увеличение патологических типов фаций – иррадиального, циркулярного и двойной фации в группе больных без сонодинамической химиотерапии. Уровень этих показателей стабильно высокий в отличие от одноименных морфотипов у больных с выраженной регрессионной динамикой опухоли после лечения с воздействием УЗ и химиопрепарата. Аналогичный реципрокный характер отношений между группами в зависимости от вида лечения отмечался по характеристике устойчивости системного ритма. Приобретение системой физиологических, но неустойчивых параметров структурной самоорганизации наблюдается

исключительно при лечении, включающем УЗ воздействие. Патологически устойчивое состояние, напротив, доминирует при стандартной химиолучевой терапии.

Таким образом, изучение морфоструктуры сыворотки крови у больных местно-распространенным раком ротовой полости позволило определить следующие особенности. Во-первых, были выявлены визуальные системные признаки изменения биожидкости, связанные с развитием опухоли, а именно, привнесением чужеродной информации, искажающей системные ауторитмы (круговые концентрационные волны) и нормотипы фаций сыворотки в сторону утраты радиальной симметрии трещин, отсутствия отдельностей и конкреций. Во-вторых, на дистантное влияние опухоли и сопутствующих патологических процессов указывало обнаружение локальных структурных признаков в периферической крови, как результата накопления молекул белков высокой и средней массы, продуктов незавершенного метаболизма, токсинов. Разупорядочивание состояния белок-липидных взаимоотношений, наличие в среде примесей насыщенных липидов, возможно, инициировало не только формирование жидкокристаллических структур, но и обуславливало эффект «смазанности» фаций, а также появление аллотропной формы белка по типу «стекла».

У больных РСРР с выраженным противоопухолевым эффектом от проведенного лечения наблюдался иной порядок самоорганизации сыворотки крови при переходе биожидкости в твердую фазу. Такой эффект полной регрессии опухоли наблюдался только при включении в схему химиолуче-

вого лечения и локальной химиотерапии, модифицированной ультразвуковым воздействием. Очевидно, что этот физический фактор быстро и значительно повышал биодоступность химиопрепарата в опухоль, и в результате наступала деструкция и резорбция злокачественного новообразования. Именно при таком противоопухолевом эффекте, когда опухоль подверглась резорбции и ее влияние на организм нивелировалось, морфоструктура фаций сыворотки крови восстанавливала процессы самоорганизации от системных концентрационных аутовольт, до системы радиальных трещин, отдельностей и конкреций.

Полученные результаты указывают на прямое (опухоль) и опосредованное (сыворотка крови) влияние локального ультразвукового излучения, не только увеличивающего ингибирующее действие химиопрепарата на опухоль, но и блокирующего ее деструктивные эффекты в отношении сыворотки крови, а, следовательно, снижающего негативное влияние на организм, что может иметь важное прогностическое значение.

#### Список литературы

1. Арджа А.Ю., Пржедецкий Ю.В., Неродо Г.А., Шихлярова А.И., Куркина Т.А. Самоорганизация сыворотки крови больных с распространенными формами рака яичников при химиотерапии в сочетании с ингазоном // Международный журнал экспериментального образования. – 2013. – № 10. Ч. 2. – С. 226–232.
2. Кит О.И., Шихлярова А.И., Максимов А.Ю., Шевченко А.Н., Филатова Е.В., Тарнопольская О.В., Куркина Т.А., Резиных И.А. Повышение биодоступности химиопрепаратов в опухоль с помощью сканирующих магнитных полей // Вопросы онкологии. – 2013. – приложение № 3. Т. 59. – С. 78–79.
3. Рапис Е.Г. Изменение физической фазы неравновесной кластерной фазы белков плазмы крови у больных с карциномой // Журнал технической физики. – 2002. – Т. 72, вып. 4. – С. 139–142.
4. Рапис Е.Г. Свойства и виды симметрии твердотельной кластерной фазы белка // Журнал технической физики. – 2001. – Т. 71, вып. 10. – С. 104–111.
5. Шабалин В.Н., Шатохина С.Н. Морфология биологических жидкостей человека. – М.: «Хризостом», 2001. – 303 с.
6. Шихлярова А.И., Е.М. Непомнящая, С.А. Машурова, Т.П. Протасова, Т.А. Куркина Морфологические особенности твердотельных пленок сыворотки крови у больных с метастазами сарком мягких тканей // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2013. – № 7. – С. 62–65.
7. Шихлярова А.И., Шейко Е.А., Атмачиди Д.П., Куркина Т.А. Мониторинг морфоструктуры цереброспинальной жидкости при проведении адьювантной химиолучевой терапии в сочетании с центральным воздействием магнитного поля у больных со злокачественными глиальными опухолями головного мозга // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2015. – № 5 (Ч. 2). – С. 238–241.
8. Шихлярова А.И., Шейко Е.А., Сергостьянц Г.З., Куркина Т.А. Оценка системных структурообразующих элементов фаций сыворотки крови больных раком легкого // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований – 2015. – № 5 (Ч. 2). – С. 265–269.
9. Патент РФ № 2488412. 27.07.2013 г Кит О.И., Джабаров Ф.Р., Франциянц Е.М., Розенко Л.Я., Максимов А.Ю., Крохмаль Ю.Н. Способ лечения рака языка // Патент России № 2488412. 2013. Бюл. № 21.