

ФЕМТОСЕКУНДНОЕ ЛАЗЕРНОЕ ИЗЛУЧЕНИЕ В МОДУЛИРОВАНИИ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО ИММУНИТЕТА НА НАЧАЛЬНОЙ СТАДИИ РАКА ШЕЙКИ МАТКИ

Т.В. Абакумова, И.И. Антонеева, Д.Р. Долгова, С.С. Пирмамедова

ФГБОУ ВПО Ульяновский государственный университет

Абакумова Татьяна Владимировна, старший преподаватель

кафедры физиологии и патофизиологии, канд. биол. наук,

Антонеева Инна Ивановна, профессор кафедры онкологии

и лучевой диагностики, д-р мед. наук,

Долгова Динара Ришатовна, старший преподаватель кафедры

физиологии и патофизиологии, канд. биол. наук,

Пирмамедова Собина Саидмагомед Кызы, ординатор,

432017, Россия, г. Ульяновск, ул. Льва Толстого, д. 42,

тел. 8 (422) 32-70-71,

e-mail: Naum-53@yandex.ru

Для оценки морфофункционального состояния нейтрофильных лейкоцитов использовали периферическую кровь 35 женщин с первичным раком шейки матки Ia стадии. Исследована фагоцитарная активность, уровень миелопероксидазы и катионных белков, жесткость мембраны нейтрофилов периферической крови больных до и после воздействия фемтосекундного лазерного излучения *in vitro*. Выявлено волнообразное и дозозависимое изменение исследуемых показателей после воздействия плотностью потока энергии - 0,27 Дж/см² и 0,96 Дж/см².

Ключевые слова: рак шейки матки, нейтрофильные лейкоциты, фемтосекундное лазерное излучение.

FEMTOSECOND LASER RADIATION IN MODULATION OF NONSPECIFIC IMMUNITY AT AN INITIAL STAGE OF CERVICAL CANCER

T.V. Abakumova, I.I. Antoneeva, D.R. Dolgova, S.S. Pirmamedova

Ulyanovsk State University

For an assessment of a morphofunctional condition of neutrophil leukocytes peripheral blood of 35 women with primary cancer of a neck of a uterus of Ia of a stage was used. Phagocytic activity, level myeloperoxidase and cationic protein, rigidity of a membrane of neutrophils of peripheral blood of patients before impact of femtosecond laser radiation of *in vitro* were investigated. Wavy and dose-dependently change of studied indicators after influence in density of a stream of energy - 0,27 J/cm² and 0,96 J/cm² is revealed.

The key words: cervical cancer, neutrophil leukocytes, femtosecond laser radiation.

На сегодня показана возможность модуляции иммунных реакций, в частности, функционального состояния нейтрофилов периферической крови (Нф) под влиянием лазерного излучения [2]. В литературе представлены результаты изучения влияния на Нф низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ) [4,8]. При этом обнаружены разнонаправленные эффекты. Лазеры с высокоинтенсивным излучением (ВИЛИ), в основном, используют в хирургии. Однако на сегодня отсутствует адекватное экспериментальное обоснование применяемых доз воздействия ВИЛИ. Особый интерес представляют высокоинтен-

сивные фемтосекундные лазеры, преимуществами которых являются малая длительность импульса, высокая пиковая и малая средняя мощности.

Рак шейки матки (РШМ) занимает в мире первое место среди всех злокачественных новообразований женских половых органов [1]. Изучение возможностей модуляции иммунных реакций организма на различных клинических стадиях заболевания позволит разработать эффективные схемы иммунотерапии.

В соответствии с вышеизложенным целью исследования было изучение морфофункциональ-

ного состояния Нф больных на начальной стадии РШМ после фемтосекундного лазерного излучения (ФСЛИ).

Материалы и методы

Объектом исследования явились Нф периферической крови 35 первичных больных (28–45 лет) на начальной стадии РШМ (Ia стадии заболевания по FIGO). Контрольную группу составили практически здоровые женщины (n=35) в возрасте 18–45 лет.

Нф, выделенные из венозной крови на двойном слое фикола/урографина ($1,117$ и $1,077$ г/см³), облучали в пластиковых кюветах высотой 1 см интенсивностью $4,5$ мВт/см² и $1,6$ мВт/см² фемтосекундным лазером, который является совместной уникальной разработкой НЦВО РАН и Ульяновского государственного университета и имеет следующие характеристики: длительность импульса – $100 \cdot 10^{-15}$; средняя мощность – $1,26 \pm 2\%$ мВт; пиковая мощность – 6 кВт; длина волны – $1,55$ мкм.

Для определения фагоцитарной активности вычисляли следующие показатели фагоцитоза: фагоцитарное число (ФЧ) по Райту и фагоцитарный индекс (ФИ) по Гамбургеру, интегральный фагоцитарный индекс (ИФИ), опсонический индекс поглощения (ОИП) [7]. Кроме того, в Нф цитохимически определяли активность миелопероксидазы (МПО), уровень катионных белков (КБ), долю активных нейтрофилов в спонтанном варианте НСТ-теста [3]. Результаты выражали в виде среднего цитохимического коэффициента (СЦК).

Для оценки жесткости мембраны Нф использован метод сканирующей зондовой микроскопии (SolverPro NT-MDT, г.Зеленоград, Россия). Использовались фирменные кремниевые зонды с жесткостью $0,2$ Н/м, радиус закругления кончика зонда составлял примерно 50 нм. Нф, фиксированные глутаровым альдегидом, сканировались в полуконтактном режиме. Ригидность мембран оценивалась по модулю Юнга, который рассчитывали согласно теории Герца [6].

Для выявления различий между данными, полученными в эксперименте и контрольной группе, применялся непараметрический U-критерий Манна-Уитни (Stata 6.0). Статистически достоверными считались данные при $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

В результате проведенных исследований установлено, что относительное количество Нф при РШМ Ia стадии статистически значимо увеличивается относительно контроля ($61,7 \pm 2,91\%$ против $55,9 \pm 4,40\%$). При этом абсолютное количество Нф крови женщин при РШМ на Ia стадии снижается в 2 раза по сравнению с таковым у практически здоровых женщин ($3,5 \pm 0,52 \times 10^9$ /л против $6,4 \pm 0,68 \times 10^9$ /л). В Нф крови женщин при РШМ ИФИ составляет $0,62$ ед., что заметно ниже по сравнению с таковым у практически здоровых женщин ($0,81$ ед.) (таблица 1).

Результаты изучения ферментов кислородзависимой и анаэробной активности Нф представлены в таблице 1. Установлено, что в Нф больных РШМ увеличивается количество активированных Нф в спонтанном НСТ-тесте и активность МПО по сравнению с Нф доноров.

Таблица 1
Функциональное состояние Нф здоровых женщин и при РШМ Ia стадии

Категория пациенток	ФИ, %	ФЧ, ус.ед.	МПО, СЦК	НСТ-тест	КБ, СЦК
Здоровые женщины	$41,20 \pm 6,437$	$1,97 \pm 0,174$	$1,56 \pm 0,169$	$1,06 \pm 0,177$	$1,79 \pm 0,124$
РШМ Ia стадия	$40,38 \pm 5,375$	$1,54 \pm 0,079$	$2,05 \pm 0,139^*$	$1,40 \pm 0,175^*$	$1,80 \pm 0,063$

Примечание: * - данные статистически значимо отличаются от аналогичных в группе контроля

Результаты оценки влияния ФСЛИ на фагоцитарную активность Нф доноров представлены на рис. 1.

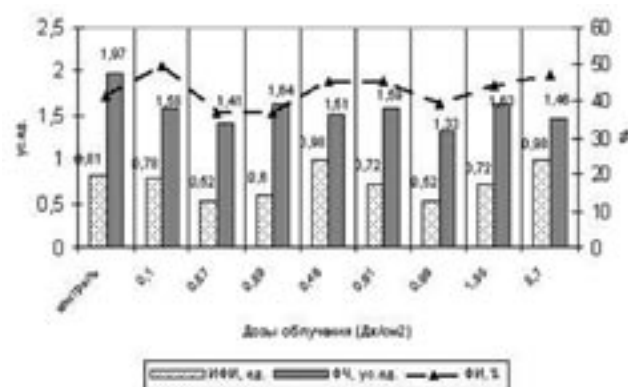


Рис. 1. Изменение фагоцитарной активности нейтрофилов в крови здоровых женщин после воздействия фемтосекундного лазерного излучения различной интенсивности (ИФИ – интегральный фагоцитарный индекс, ФИ – фагоцитарный индекс, ФЧ – фагоцитарное число)

ФЧ Нф периферической крови практически здоровых женщин снижается при влиянии ФСЛИ средней интенсивности в $0,27$ Дж/см² ($1,41 \pm 0,083$ против $1,97 \pm 0,174$ ус.ед. в контроле), $2,70$ Дж/см² ($1,46 \pm 0,028$ против $1,97 \pm 0,174$ ус.ед. в контроле) и $0,96$ Дж/см² ($1,33 \pm 0,071$ против $1,97 \pm 0,174$ ус.ед. в контроле). При этом ИФИ в Нф крови здоровых женщин при облучении средней интенсивности $0,27$ и $0,96$ Дж/см² составляет $0,52$, а при $2,7$ мДж/см² – $0,68$ (рис. 1).

Таким образом, ФСЛИ дозозависимо снижает ФЧ Нф доноров и волнообразно дозозависимо изменяет ФИ и ИФИ этих Нф, сохраняя их в пределах коридора нормы. Результаты изучения показателей фагоцитоза у Нф больных РШМ после ФСЛИ представлены на рис. 2.

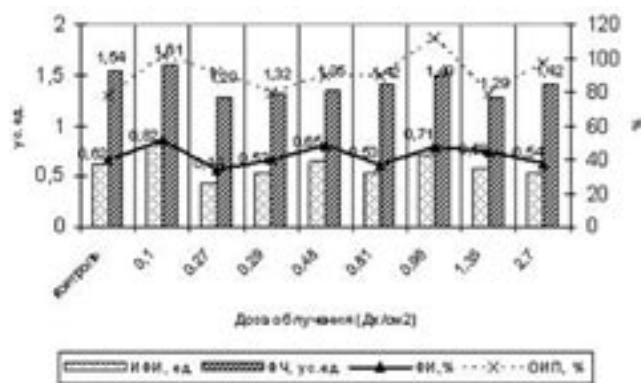


Рис. 2. Изменение фагоцитарной активности нейтрофилов в крови больных раком шейки матки на Ia стадии после воздействия фемтосекундного лазерного излучения различной интенсивности (ИФИ – интегральный фагоцитарный индекс, ФЧ – фагоцитарный индекс, ФЧ – фагоцитарное число, ОИП – опсонический индекс поглощения)

Как следует из приведенных данных, наиболее значимые колебания показателей фагоцитоза имели место при дозах ФСЛИ 0,27 Дж/см², при которых ФИ, ФЧ и ИФИ в Нф снижаются по сравнению с необлученными клетками больных РШМ, и доза 0,10 Дж/см², при которой ФИ, ФЧ и ИФИ возрастают. ОИП возрастает при всех использованных дозах ФСЛИ. При анализе влияния ФСЛИ на активность ферментов аэробной и кислороднезависимой бактерицидности Нф установлено, что активность МПО Нф здоровых женщин статистически значимо возрастает при облучении дозой 0,29 Дж/см², 0,81 Дж/см² и 1,35 Дж/см². При этом увеличивается количество НСТ-положительных Нф при облучении 0,10 Дж/см² и 2,70 Дж/см². Уровень КБ в Нф, облученных дозой 0,10 Дж/см², 0,27 Дж/см², 0,29 Дж/см² и 2,7 Дж/см² (рис. 3).

У больных РШМ Ia стадии снижается количество НСТ-положительных Нф при облучении 0,96 Дж/см² (1,08±0,153 СЦК против 1,40±0,175 СЦК в необлученных Нф). Уровень КБ и активность МПО изменяется волнообразно в пределах коридора нормы. При оценке влияния ФСЛИ на Нф больных РШМ было установлено изменение ригидности в зависимости от интенсивности излучения (таблица 2).

Данные, представленные в таблице 2, позволяют предполагать значимое увеличение ригидности Нф доноров при всех использованных дозах ФСЛИ. При ФСЛИ Нф пациенток с РШМ Ia ригидность клеток

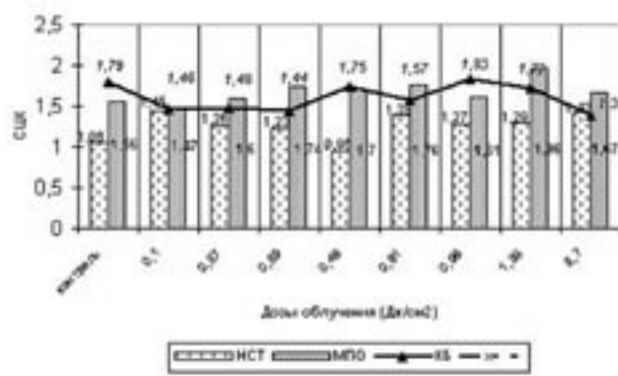


Рис. 3. Изменение бактерицидной активности нейтрофилов здоровых женщин после воздействия фемтосекундного лазерного излучения различной интенсивности (НСТ – нитросиний тетразолий, КБ – катионные белки, МПО – миелопероксидаза, СЦК – средний цитохимический коэффициент)

значимо снижалась при низких (0,10-0,27 Дж/см²) и высоких (1,35-2,70 Дж/см²) дозах облучения.

Выводы

1. При РШМ на начальной стадии снижается абсолютное количество Нф и их фагоцитарная активность неизменной бактерицидной активности.
 2. ФСЛИ волнообразно и дозозависимо изменяет фагоцитарную активность и бактерицидность Нф доноров при значимом их снижении после воздействия доз 0,27 Дж/см² и 0,96 Дж/см².
 3. Доза ФСЛИ 0,10 Дж/см² праймирует Нф на начальной стадии РШМ; повышение дозы до 0,27 Дж/см² снижает в этих Нф фагоцитарную активность.
 4. При облучении Нф больных РШМ ФСЛИ *in vitro* жесткость мембраны снижается, а у Нф крови здоровых женщин повышается.
- Работа поддержана гос. заданием МИНОБР-НАУКИ РФ и грантом Президента.

Список литературы

1. Афанасьев М.С., Алешкин В.А., Афанасьев С.С. Вирусно-бактериальная природа дисплазии и рака шейки матки // Вестн. РАМН. – 2004. – № 6. – С. 35–40.
2. Долгушин И.И., Гизингер О.А., Ишпахтин К.Г. Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения на иммунологическую реактивность организма // ВМНТ. – 2008. – Т. XV. – № 2. – С. 95–97.

Таблица 2

Показатели ригидности мембраны Нф крови после ФСЛИ различной интенсивности *in vitro*

Ригидность, Па	Контроль	Средняя доза облучения (Дж/см ²)							
		0,10	0,27	0,29	0,48	0,81	0,96	1,35	2,70
Здоровые женщины	360,8±14,1	515,9±14,96*	561,7±22,88*	481,6±19,32*	382,0±17,72	569,6±22,62*	937,4±33,09*	550,1±29,95*	496,3±26,43*
РШМ Ia	314,8±23,00	216,7±18,11*	197,9±10,34*	274,8±23,60	295,7±23,32	340,8±34,25	296,9±17,05	200,8±9,34*	192,8±10,6*

Примечание: * – данные статистически значимо отличаются от аналогичных в контроле

3. Карпищенко А.И. Медицинские лабораторные технологии (справочник). – СПб.: «Интермедика», 1999. – 656 с.

4. Плескова С.Н., Звонкова М.Б., Гушина Ю.Ю. Использование метода сканирующей зондовой микроскопии для исследования морфологических параметров нейтрофильных гранулоцитов // Морфология. – 2005. – Т. 127. – №1. – С. 60-62.

5. Dolgushin I.I., Markova V.A., Gizinger O.A. Monitoring of the effect of low-intensity laser radiation with constant pulse generation on neutrophil granulo-

cytes in vitro // Bull Exp Biol Med. – 2010. – Vol. 150. – №2. – P. 222-224.

6. Siposan D.G., Lukacs A. Relative variation to received dose of some erythrocytic and leukocytic indices of human blood as a result of low-level laser radiation: an in vitro study // J. Clin. Laser Med. Surg. – 2001. – Vol. 19. – № 2. – P. 89-103.

7. Weiderpass E. Hormonal risk factors of cancer in human point of cancer epidemiologist // International conference. Hormonal cancerogenesis. – SPb, 2000. – P. 22-23.

ОПТИМИЗАЦИЯ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКОЙ АНАЛЬНОЙ ТРЕЩИНОЙ

Р.Ф. Адиев, И.И. Хидиятов, Р.З. Султанов, М.В. Казаков, Э.Ф. Валиахметова

ГБОУ ВПО Башкирский государственный медицинский университет
ГУЗ Республиканский клинический онкологический диспансер, г. Уфа
Поликлиника №47, г. Уфа

Адиев Ринат Фликович, ассистент кафедры оперативной хирургии и хирургической анатомии с курсом ИПО,
Хидиятов Ильдар Ишмурзович, зав. кафедрой оперативной хирургии и хирургической анатомии с курсом ИПО,
д-р мед. наук, профессор

Султанов Руслан Закирович, главный врач РКОД, канд. мед. наук,
Казаков Михаил Васильевич, колопроктолог МБУЗ поликлиника №47,
Валиахметова Эндже Фаварисовна, студентка гр. Л-602 БГМУ,
450000, Россия, Республика Башкортостан, г. Уфа, ул. Ленина, д. 3
тел. 8 (347) 273-56-70,
e-mail: andgeval@gmail.com

92 больным с хронической анальной трещиной было проведено сравнительное хирургическое лечение в зависимости от причины развития заболевания и показаний базального давления анального сфинктера. Было установлено, что по сравнению с традиционным способом комплексного хирургического лечения, применение «глухого» шва и разработанного модифицированного шва, равномерно заживляющего рану со дна, в сочетании с химической сфинктеротомией способствует достоверному ускорению заживления послеоперационной раны и уменьшению числа осложнений.

Ключевые слова: хроническая анальная трещина, патогенез, хирургическое лечение.

OPTIMIZATION OF SURGICAL TREATMENT OF PATIENTS WITH CHRONIC ANAL FISSURES

R.F. Adiev, I.I. Khidiyatov, R.Z. Sultanov, M.V. Kazakov, E.F. Valiakhmetova

Bashkir State Medical University
Republican Clinical Oncological Dispensary, Ufa
City Polyclinic №47, Ufa

92 patients with chronic anal fissure were treated depending on the cause of the disease and the magnitude of the basal pressure anal sphincter. It was found that, compared to the traditional method of surgical treatment, the use of "blind" stitch and developed modified suture, evenly healing the wound from the bottom, in combination with chemical sphincterotomy, contributes to significant acceleration of wound healing and causes fewer complications.

The key words: chronic anal fissure, pathogenesis, surgical treatment.