

УДК 616.44

С.В. ІВАСІВКА, М.М. КОВБАСНЮК, В.Р. БЛАС, О.Л. ХОДАК.

ВПЛИВ БАЛЬНЕОТЕРАПІЇ НА РІСТ ЛІМФОСАРКОМИ ПЛІСА

Установлено, що затримання росту перевивної лимфосаркоми Пліса під впливом мінеральної води Нафтуса обумовлено формуванням загальної адаптаційної реакції, яка запускається органічними речовинами-ксенобіотиками цієї води.

* * *

ВСТУП

Впродовж декількох десятиліть школою Р.Є. Кавецького досліджувались механізми протипухлинної резистентності як частина проблеми взаємовідношень пухлини і організму [22]. За весь цей період вдосконалювались методичні прийоми, але методологічний підхід залишався тим же - пухлинна хвороба - не місцевий процес, а загальне захворювання всього організму, яке протікає на фоні зниження як природної резистентності, так і імунологічної компетентності організму.

Тому суть методів корекції залишилась незмінною - ліквідувати імунну депресію, підсилити протипухлинну реакцію організму шляхом специфічної імунізації і неспецифічної стимуляції із застосуванням біологічних, хімічних і синтетичних стимуляторів.

Розвитку будь-якої пухлини передують порушення механізмів природної неспецифічної резистентності організму [4].

Експериментально було показано, що спрямована зміна механізмів неспецифічної резистентності може значно підвищити опірність організму до перевивних пухлин і хімічних канцерогенів [6].

Грунтуючись на численних даних про адаптогенну дію мінеральної води Нафтуса [8, 10, 11, 14], її імуномодуючу дію [13], ми поставили собі за мету оцінити темп росту перевивної лімфосаркоми Пліса в умовах бальнеотерапевтичного дослідження, а також після превентивного наповнення інтактних щурів, яке завершувалося станом підвищеної неспецифічної резистентності [16].

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

В експерименті використовувались щури лінії Вістар масою тіла (м.т.) 210-230 г.

Лімфосаркому Пліса (0,5 мл 10 %-ї суспензії) прищеплювали за стерильних умов підшкірно, з правого боку, між передньою і задньою лапками. Латентний період приживлення пухлини складав 7 днів. На 8-й день тварин рандомізували, згідно розмірів пухлинних вузлів, на контрольну і дослідні групи.

Щурів контрольної групи утримували на стандартній дієті віварія і вільному доступі до води, впродовж 10 днів. Щурів дослідної групи, за аналогічних умов, поїли мінеральною водою Нафтуса при допомозі зонду, у дозі 1,5 % м.т. щоденно.

Окрему дослідну групу складали щури, котрих поїли мінеральною водою Нафтуса, в тій же дозі, 21 день до прищеплення пухлини та 17 днів після.

Інтактні щури служили додатковим контролем.

Аналіз фізіологічних і морфологічних показників проводили після завершення поїння. Визначали вміст гемоглобіну периферійної крові, підраховували чисельність еритроцитів, лейкоцитів, в мазку крові підраховували вміст великих гранулярних лімфоцитів (натуральних кілерів).

Активність секреторного транспорту в нирках оцінювали згідно відносної (%) секреції фенол роту [3]. 0,01 %-ий розчин фенолроту (0,35 мг / кг) вводили щурам внутрішньоочеревинно, зразу ж після перорального навантаження водопровідною водою (2 % м.т.). Тривалість збору сечі – 1 год.

Концентрацію фенолроту вимірювали фотоколориметрично, використовуючи властивість барвника вибірково поглинати світло довжиною 540-580 нм у лужному середовищі (максимум поглинання – 560 нм, згідно реєстрації суцільного спектру поглинання спектрофотометром Spesord UV VIS, ФРН). Стандартні розчини фенол роту (5, 10, 20 мг / кг) готували із вихідного 0,01 %-го розчину барвника, котрий вводили щурам. Проби сечі попередньо центрифугували при 3 000 об / хв, впродовж 5 хв. Для отримання стійкого забарвлення стандартні розчини фенолроту і супернатант сечі змішували із 1 N розчином NaOH у співвідношенні 1: 5. Оптичну щільність вимірювали через 10 хв.

Інтенсивність форсованого діурезу оцінювали згідно частки (%) об'єму сечі (мл /год) від загальної кількості введеної рідини, а саме, суми пероральної водної нагрузки і введеного 0,01%-го розчину фенол роту.

В подальшому тварин декапітували, визначали масу пухлини, а також масу тимуса, селезінки і наднирників (індикатори імуногенезу, адаптації, стресу).

Чисельність мієлокаріоцитів підраховували в кістковому мозку сегменту грудини.

Фракцію лейкоцитів для оцінки реакції бласттрансформації лімфоцитів (РБТЛ) і активності фагоцитозу отримували шляхом забору крові при декапітації на 4 %-ий лимоннокислий натрій, з подальшим центрифугуванням при 1 500 об / хв., впродовж 10 хв. Обидва показники визначали стандартними методами [24].

Отримані результати опрацьовували статистично [20].

ОТРИМАНІ РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

З даних, наведених в табл. 1 видно, що у контрольних тварин за 17 днів після трансплантації лімфосаркоми Пліса маса пухлин сягає 34,2±4,5 г.

При курсовому напоюванні щурів мінеральною водою Нафтуса в дозі 1,5% маси тіла (м.т.) через 7 днів після інокуляції пухлин впродовж 10 днів їх ріст вірогідно гальмується на 62,3%.

В групі тварин, котрі отримували Нафтусю інтрагастрально в цій же дозі впродовж 21 дня (тобто цілого курсу) до трансплантації і 17 днів після інокуляції, ріст пухлин гальмувався на 63,2% (р < 0,01).

Таблиця 1. Вплив води Нафтуса на ріст лімфосаркоми Пліса

Форма досліджу	Маса пухлин, г	% гальмування
Контроль (17 днів після прищеплення)	34,2±4,5 (13)	-
Нафтуса 1,5% м.т. впродовж 10 днів через 7 днів після прищеплення	12,9±6,2 (6)*	62,3
Нафтуса превентивно в тій же дозі 21 день до прищеплення та 17 днів після	12,6±3,8(6)**	63,2

Примітка: Тут і в подальшому * - вірогідність щодо контролю (*-р<0,05; **-р<0,01; ***-р<0,001). В дужках - кількість тварин.

В результаті бальнеотерапії вірогідно зростає маса тимуса (клітинний імунітет), спостерігається тенденція до зростання маси селезінки (гуморальний імунітет). Розвиток пухлин супроводжується збільшенням маси наднирників, в той час як бальнеотерапія знижує вираженість стресової реакції на пухлинний процес (табл. 2).

Таблиця 2. Вплив бальнеотерапії на масу деяких внутрішніх органів

Форма досліджу	Тимус, % м.т.	Селезінка, % м.т.	Наднирники, % м.т.
Інтактні тварини	0,03±0,001(5)	0,26±0,03(5)	0,02±0,002(5) **
Контроль (17 днів після прищеплення)	0,03±0,002(10)	0,26±0,04(10)	0,03±0,002(10)
Нафтуса 1,5% м.т. впродовж 10 днів через 7 днів після прищеплення	0,06±0,004(5)***	0,31±0,02(5)	0,03±0,003(5)
Нафтуса превентивно в тій же дозі 21 день до прищеплення та 17 днів після	0,04±0,001(5)***	0,28±0,01(5)	0,02±0,002(5) **

Відомо, що Нафтуса індукує своїми органічними речовинами максимальний секреторний транспорт в нирках з відповідним зростанням діурезу [10]. Водночас з даних, наведених в таблиці 3,

видно, що у контрольних тварин також значно активується швидкість транспортних процесів в нирках, але це відбувається за рахунок ендogenous індукторів, кількість яких зростає при вогнищевій некротизації пухлинної тканини.

Таблиця 3. Вплив Нафтусі на секреторний транспорт в нирках та діурез

Форма досліджу	Секреція фенолроту, % /год	Форсований діурез, % від введеної рідини
Інтактні тварини	20,8±1,4(5) ***	23,2±2,6(5)
Контроль (17 днів після прищеплення)	41,8±3,3(11)	30,5±6,1 (11)
Нафтуса 1,5% м.т. впродовж 10 днів через 7 днів після прищеплення	47,4±7,4(5)	40,8±6,7 (5)
Нафтуса превентивно в тій же дозі 21 день до прищеплення та 17 днів після	42,9±5,1(6)	46,7±4,9 (5)

Пухлинний процес, внаслідок ендogenous інтоксикації, супроводжується пригніченням синтезу гемоглобіну, зниженням вмісту в периферійній крові еритроцитів та лейкоцитозом. При цьому подразнюється кістковий мозок і підвищується його клітинність (табл. 4). Мінеральна вода Нафтуса завдяки своїм детоксикаційним властивостям [11] не тільки відвертає негативний вплив патологічного процесу на кровотворення, але й стимулює, як це було показано раніше, його кісткомозкову ланку.

Таблиця 4. Вплив бальнеотерапії на гемопоез

Форма досліджу	Гемоглобін, г/л	Еритроцити, 10 ¹² /л	Лейкоцити, 10 ⁹ /л	Міелокаріоцити, 10 ¹² /л
Інтактні тварини	104±2(5) ***	7,31±0,22(5) *	9,19±0,63(5) **	1,04±0,05(5) *
Контроль (17 днів після прищеплення)	89±2(10)	6,19±0,34(10)	13,8±0,99(10)	1,28±0,08(8)
Нафтуса 1,5% м.т. впродовж 10 днів через 7 днів після прищеплення	108±4(5)**	7,19±0,36(5)	12,12±0,80(5)	1,67±0,11(11) *
Нафтуса превентивно в тій же дозі 21 день до прищеплення та 17 днів після	107±2(5)***	7,42±0,34(5)*	12,19±1,88(5)	1,28±0,07(5)

З даних, наведених в табл. 5 видно, що мінеральна вода Нафтуса застосована у вигляді превентивного курсу напоювання перед інюкаляцією пухлин значно підвищує здатність лімфоцитів до бласттрансформації та відновлює вміст в крові великих гранулярних лімфоцитів, а також максимально стимулює бактерицидну здатність фагоцитів (табл. 6).

Таблиця 5. Вплив бальнеотерапії на бласттрансформацію лімфоцитів та вміст натуральних кілерів

Форма досліджу	РБТЛ Д-К/К*100%	ВГЛ, %
Інтактні тварини	26,0±1,7(5)	19,5±0,4(5)**
Контроль (17 днів після прищеплення)	25,4±1,4(5)	13,4±1,3(5)
Нафтуса 1,5% м.т. впродовж 10 днів через 7 днів після прищеплення	30,6±1,5(5)*	16,1±1,4(5)
Нафтуса превентивно в тій же дозі 21 день до прищеплення та 17 днів після	43,3±3,1(5)***	19,4±0,4(5)**

Таблиця 6. Вплив Нафтусі на фагоцитоз

Форма досліджу	Фагоцитарна активність (% фагоцитів)	Мікробне число, мікробів/фагоцит	Індекс перетравлення, %
Інтактні тварини	56 ± 4 (5) *	13 ± 1 (5)	44,9 ± 1,2 (5) **
Контроль (17 днів після прищеплення)	45 ± 2 (10)	14 ± 1 (10)	39,8 ± 1,0 (10)
Нафтуса 1,5% м.т. впродовж 10 днів через 7 днів після прищеплення	66 ± 2 (5) ***	22 ± 1 (5) ***	53,9 ± 4,2 (5) **
Нафтуса превентивно в тій же дозі 21 день до прищеплення та 17 днів після	32 ± 2 (5) ***	17 ± 1 (5)	59,1 ± 1,0 (5) ***

Водночас, Нафтуса, застосована у вигляді терапевтичного курсу напоювання, через 7 днів після інокуляції пухлини, впродовж 10 днів, активує всі ланки фагоцитозу (табл. 6), тоді як здатність лімфоцитів до бласттрансформації і чисельність великих гранулярних лімфоцитів залишаються в межах норми (табл. 5).

Збереження імунної рівноваги, на тлі повноцінного кровотворення, дозволяє припустити, що Нафтуса оптимізує енергоінформаційний обмін між лімфоїдною і міелоїдною тканинами у тварин-пухлиноносіїв.

Таким чином, правомірно дійти висновку, що гальмування росту лімфосаркоми Пліса під впливом води Нафтуса зумовлене мобілізацією і / або активацією захисних сил і резервів організму.

Активация мінеральними водами природної та антигензалежної резистентності організму вивчена всебічно в експерименті і клініці [2, 7, 19, 23, 26, 27], однак питання про механізми їх імунотропної і / або імуномодулюючої дії залишається дискусійним.

Більшість курортологів схильні вважати [21, 28], що мінеральні води, як багатокomпонентні сольові розчини, активують, перш за все, нейрогуморальні і ендокринні регуляторні механізми, котрі, в свою чергу, чинять відповідний вплив на адаптаційні системи організму. Це припущення виправдане для питних лікувальних вод середньої мінералізації, однак непридатне для "прісних" вод типу Нафтуса.

Наші багаторічні дослідження нативної Нафтусі, а також гідрофобної і гідрофільної фракцій її ліофілізату, дозволили дійти висновку, що органічні речовини цієї води поведуться в організмі як

чужорідні, потенційно токсичні речовини (ксенобіотики) [9, 10, 12]. Їх тривале надходження в організм активує мікросомальну монооксигеназну та каналцеву секреторно-транспортну системи детоксикації як самих органічних речовин, так і інших ксенобіотиків і ендогенних метаболітів, зокрема калію, кальцію, магнію, сечовини і уратів із сечею, білірубін і холатів – продуктів гідроксилювання холестерину – з жовчю.

Внаслідок цього підвищується антиоксидантна резистентність організму, котра, разом з присутніми в Нафтусі металорганічними комплексами міді і марганцю [5], є підґрунтям повноцінного кровотворення [17, 18, 25].

Гідроксилювання присутніх в Нафтусі [1] поліциклічних ароматичних вуглеводнів мікро- і макрофагами, з подальшим виділенням цитокінів-імуномодуляторів [15], а також можливість трансформації ксенобіотиків-гаптенів в антигени шляхом зв'язування їх з альбумінами саме в мікросомах, здатні активувати і збалансовувати механізми неспецифічного захисту (фагоцитоз, лізоцим) та імунітету, що підвищує опірність організму до всіх чужорідних агентів, зокрема, перевивних пухлин.

Дія органічних речовин Нафтусі на ендокриноцити гастро-ентеро-панкреатичної ентеринової системи модулює вивільнення регуляторних поліпептидів, зокрема сімейств гастрину і секретину, що супроводжується нормалізацією функції і трофіки травної системи і розглядається як місцева адаптаційна реакція [9, 29].

Разом з тим, вивільнення ентєральними ендокриноцитами тропінів і ліберинів (АКТГ, ТТГ тощо) активує гіпоталамо-гіпофізарну систему, завдяки чому оптимізується функція головних адаптивних залоз (наднирників, гонад, щитовидної), гормони котрих, в свою чергу, чинять регуляторний вплив на основні системи організму (імунону, травну, сечовидільну, кровотвірну тощо), підвищують його загальну, а отже, і протипухлинну опірність.

Таким чином, можна зробити висновок, що гальмування росту перевивної лімфосаркоми Пліса під впливом Нафтусі зумовлене розгортанням загальної адаптаційної реакції, що запускається органічними речовинами-ксенобіотиками цієї води.

Одним із сучасних методів експериментальної імунокорекції є використання рекомбінантних імуномодуляторів, скероване, перш за все, на отримання ефекторних клітин із передбачуваними властивостями, з подальшим їх введенням тваринам-пухлиноносіям, безпосередньо, або в поєднанні з цитостатиками [30, 33], а також для підвищення протипухлинної дії природних і преформованих фізичних чинників [32].

Водночас відомо, що застосування рекомбінантних імуномодуляторів в клінічній онкотерапії може супроводжуватися анемією і нейтропенією, внаслідок пригнічення проліферації мієлокаріоцитів кісткового мозку [31].

Отримані нами дані дозволяють сподіватися, що мінеральна вода Нафтуса здатна розширити і збагатити можливості адаптивної терапії.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бегунова Г.С., Сердан А.А., Клячко Ю.А. Качественный анализ углеводов минеральной воды "Нафтуса" // Вопр. курортол. – 1985.- № 6.- С. 15-19.
2. Бондарчук Г.Ф. Влияние комплексного курортного лечения с применением одесской минеральной воды на иммунологическую реактивность организма у больных язвенной болезнью // Курортология и физиотерапия.- К.: Здоров'я, 1980.- Выпуск 13.- С. 62-65.
3. Бреслер В.М., Никифоров А.А. Транспорт органических кислот через плазматические мембраны.- Л.: Наука, 1981.- 203 с.
4. Воронцов В.А., Фролов Б.А., Филиппов В.К. О роли изменений естественной резистентности организма в патогенезе опухолевого процесса / Патогенез, диагностика и лечение злокачественных новообразований.- Куйбышев, 1984. – С. 36-39.
5. Гавдяк М.В. Металорганічні комплекси марганцю та міді води Нафтуса // Актуальні питання санаторно-курортного лікування та реабілітації : Мат. доп. наук.-практ. конф., присв. 30-річчю сан. "Прикарпаття".- Трускавець, 1998.- С. 24-25.
6. Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Уколова М.А. Адаптационные реакции и резистентность организма.- Ростов н/Дону : Изд-во Ростов. ун-та, 1977.- 119 с.
7. Гринзайд М.И., Горбанев А.Ф. Иммунологическая оценка влияния минеральных вод при их внутреннем применении на экспериментальной модели язвенной болезни // Вопр. курортол.- 1981.- № 3. – С. 20-25.
8. Загальні адаптаційні реакції і резистентність організму ліквідаторів аварій на ЧАЕС / За ред. Поповича І.Л.- К.: Комп'ютерпрес, 2000.- 117 с.
9. Івасівка С.В. Біологічно активні речовини води Нафтуса, їх генез та механізми фізіологічної дії.- К.: Наук. думка, 1997.- 111 с.
10. Івасівка С.В., Попович І.Л., Ахсентійчук Б.І., Білас В.Р. Природа бальнеочинників води Нафтуса і суть її лікувально-профілактичної дії.- Трускавець: Трускавецькурорт, 1999.- 125 с.
11. Івасівка С.В., Ковбаснюк М.Н., Унковская Д.М. Гепатопротекторное действие воды "Нафтуса".- Деп. в ВИНТИ, № 3486-В. 05.88.- 14 с.
12. Івасівка С.В., Попович І.Л., Яременко М.С., Ковбаснюк М.Н. Минеральная вода Нафтуса как ксенобиотик // Физиол. журн. – 1990.- Т.36, № 3.- С. 40-45.

13. Івасівка С.В., Білас В.Р., Ходак О.Л. Реабілітація імунологічного статусу пацієнтів після радикального лікування онкопатології бальнеотерапевтичним комплексом Трускавця // Медична гідрологія та реабілітація – 2003. - Т. 1, № 1.- С. 18-26.
14. Івасівка С.В., Гавляк М.В., Ковбаснюк М.М. Органічні речовини та металорганічні комплекси мінеральних вод як мітогени // Актуальні питання санаторно-курортного лікування та реабілітації : Мат. доп. наук.-практ. конф., присв. 30-річчю сан . "Прикарпаття".- Трускавець, 1998.- С. 30-31.
15. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С., Воробьев А.А. Эндогенные иммуномодуляторы.- СПб.: Гиппократ, 1992.- 256 с.
16. Ковальчук Г.Я., Білас В.Р., Попович І.Л., Гучко Б.Я. Вплив води "Нафтуса" на захисну функцію крові шурів // Актуальні питання санаторно-курортного лікування та реабілітації : Мат. доп. наук.-практ. конф., присв. 30-річчю сан . "Прикарпаття".- Трускавець, 1998.- С. 10-11.
17. Ковбаснюк М.М., Корзун В.Н., Бейда П.А., Гучко Б.Я. Вплив лікувальної води Нафтуса на гемопоез шурів при затруєнні радіоцезієм // Медична реабілітація потерпілих внаслідок чорнобильської катастрофи : Тези доп. наук.-практ. конф.- Трускавець, 1996.- С. 25-26.
18. Ломейко С.М., Івасівка С.В., Ковбаснюк М.М. Гемопоетична активність води Нафтуса та її відтворення метаболітами автохтонної мікрофлори // Укр. бальнеол. журн. – 1998.- Т. 1, № 2-3.- С. 20-24.
19. Мищук В.Г. Влияние минеральной воды на иммунологическую реактивность больных хроническим панкреатитом // Врач. дело.- 1983.- № 3.- С. 34-38.
20. Монцевичюте-Эрингене Е.В. Упрощенные математико-статистические методы в медицинской исследовательской работе // Пат. физиология.- 1964.- № 4.- С. 71-74.
21. Павлова Е.С., Баходдина Е.И. Механизм иммунотропного эффекта питьевых минеральных вод // Укр. бальнеол. журн. – 2004.- № 1.- С. 11-15.
22. Пинчук В.Г. Развитие идей А.А. Богомольца в области изучения реактивности организма при опухолевом процессе // Физиол. ж. – 1981. – Т. 271, № 3.- С. 327-331.
23. Ракша-Слюсарева О.А. Консервована мінеральна вода збручанська нафтуса – новий імунокоректор для езокризових районів // Лік. справа.- 1997.- № 2.- С. 116-119.
24. Руководство по аллергологии и клинической иммунологии / Под ред. акад. РАНМ Р.М. Хаптова.- Львов, 1997.- 303 с.
25. Рябов С.И., Шостка Г.Д. Эритрон и почка.- Л. : Наука, 1985.- 222 с.
26. Середюк Н.Н. Роль сульфатно-хлоридных натриево-магнево-калиевых минеральных вод курорта Моршин в лечении больных хроническим гепатитом (по данным клинико-биохимических, радиоизотопных, реовазографических и иммунологических исследований) // Вопр. курортол.- 1978.- № 5.- С. 48-53.
27. Середюк Н.Н., Денисюк В.Г., Стороженко Н.А. и др. Иммунонормализующее и холесекреторное действие хлоридно-сульфатной калиево-магнево-натриевой минеральной воды при хроническом холецистите и гепатите // Вопр. курортол.- 1983.- № 4.- С. 32-36.
28. Шварц В.Я., Фролков В.К. Некоторые аспекты изучения лечебного действия минеральных вод при заболеваниях органов пищеварения // Вопр. курортол.- 1990.- № 1.- С. 20-24.
29. Яременко М.С., Івасівка С.В., Попович І.Л. и др. Физиологические основы лечебного действия воды Нафтуса.- К.: Наук. думка, 1989.- 144 с.
30. Berezna N.M., Kovalchuk E.V., Vinnichuk Y. D. et al. Experimental immunotherapy of mice with transplanted MC-rhabdomyosarcoma resistant to doxorubicin // Exp. Oncology. - 2004. – Vol. 26, № 1. – P. 63-66.
31. Etlinghausen S.E., Moore J.G., White D.E. et al. Hematologic effects of immunotherapy with lympholine activated killer cells and recombinant interleukin-2 in cancer patients // Blood.- 1987.- Vol. 69, № 6.- P. 1654-1660.
32. Potapnev M.P., Istomin Yu.P., Ismail-zade R.S., Zhavrid E.A. Enhancement of antitumor response to sarcoma 45 in rats by combination of whole-body hyperthermia and interleukin-2 // Exp. Oncology. - 2004. – Vol. 26, № 1. – P. 67-70.
33. Zhang Sheng, Wang Qin, Li Wen-Feng et al. Different antitumor immunity roles of cytokine activated T lymphocytes from naïve murine splenocytes and from dendritic cells-based vaccine primed splenocytes: implications for adoptive immunotherapy // Exp. Oncology. - 2004. – Vol. 26, № 1. – P. 55-62.

S.V. IVASSIVKA, M.M. KOVBASNYUK, V.R. BILAS, O.L. KHODAK
INFLUENCE OF THE BALNEOTHERAPY ON THE GROWTH OF THE PLIS' LYMPHOSARCOMA.

It is established, that the inhibition of the growth of the transplantative Plis' lymphosarcoma under the influence of the mineral water Naftussya is conditioned by formation of the common adaptative reaction, which is triggered off by organic substances-xenobiotics of this water.

Відділ експериментальної бальнеотерапії Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, філія ЗАТ "Трускавецькурорт" санаторій "Рубін", Трускавець

Дата поступлення: 25. 05. 2004 р.