

## **Морфофункциональные аспекты противоопухолевого эффекта низкоинтенсивного микроволнового резонансного излучения в эксперименте**

Т.Н. Гудцова, Г.В. Жукова, Л.Х. Гаркави, М.И. Суханова, О.Ф. Евстратова, Т.А. Бартенева

ФГУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт Росмедтехнологий»  
(директор – академик РАН и РАМН Сидоренко Ю.С.) г. Ростов-на-Дону.

**Реферат.** Изучали эффекты слабого электромагнитного излучения СВЧ-диапазона с биоэффективной частотой у крыс с перевивной саркомой 45. При использовании режимов активационной терапии противоопухолевый эффект в виде выраженного торможения роста или частичной регрессии опухоли получен у половины животных. В ткани опухоли при этом отмечены деструктивные изменения, увеличение числа и активности клеток иммунной системы, а также признаки повышения дифференцировки клеток опухоли.

**Ключевые слова:** микроволновое резонансное излучение, активационная терапия, противоопухолевый эффект, дифференцировка клеток, электронная микроскопия.

Адрес для корреспонденции. 344037, г. Ростов-на-Дону, 14-я линия, 63, e-m: [mioi@list.ru](mailto:mioi@list.ru).

## **Morphofunctional aspects of antitumor effect of the weak microwave resonance radiation in experiment**

T.N. Gudzkova., G.V. Zhukova, L.H. Garkavi, M.I. Sukhanova, O.F. Evstratova, T.A. Barteneva

Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia

**Abstract.** Changes in tumor tissue caused by the weak microwave radiation with bioactive frequency were investigated in white outbred rats with transplanted sarcoma 45. This factor was applied in accordance with methods of the activation therapy. Antitumor effects as tumor growth inhibition and partial regression were noted in half of cases. Destructive changes in tumor tissue, as well as increase of amount and activity of immune cells in tumor and also showings of advancement in tumor cytodifferentiation were observed by light and electron microscopy.

**Key-words:** microwave resonance radiation, activation therapy, antitumor effect, cytodifferentiation, electron microscopy.

Традиционные методы противоопухолевого лечения – лучевая терапия и химиотерапия - известны своими иммунодепрессивными и токсическими эффектами, поэтому поиск комплементарных и альтернативных методов лечения в онкологии остается актуальным. В ходе многолетних исследований показана возможность значительного повышения противоопухолевой резистентности организма с помощью низкоинтенсивных электромагнитных воздействий на структуры мозга, приводящих к развитию общих неспецифических антистрессорных адаптационных реакций организма [1, 3]. Такие антистрессорные интегральные реакции организма способствуют активизации органов иммунной и эндокринной системы и повышению неспецифической противоопухолевой резистентности. В связи с этим были разработаны методы эффективного использования слабых электромагнитных воздействий, направленные на обеспечение условий для развития

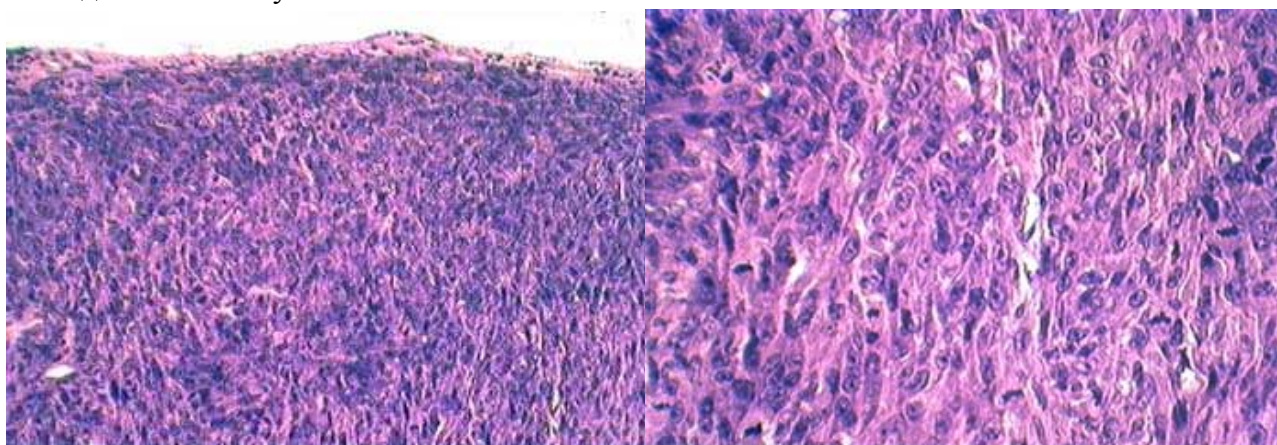
в организме антистрессорных адаптационных реакций – режимы активационной терапии – предусматривающие, в том числе, и применение излучений с биоэффективными частотами [1]. Именно к таким факторам можно отнести, так называемое, микроволновое резонансное излучение (РИ), недавно обнаруженное в связи с открытием СПЕ-эффекта и связанное с водной компонентой биологических жидкостей [4]. Частота этого излучения, генерируемого водными средами в ответ на действие биологически активных излучений миллиметрового диапазона, близка к 1 ГГц. В связи с малой изученностью медико-биологических эффектов РИ, была поставлена цель оценить его возможности как фактора противоопухолевой терапии. В настоящей работе представлены первые результаты исследования влияния РИ, предъявлявшегося в режиме активационной терапии, на состояние экспериментальных перевивных опухолей животных.

Методика исследования. Исследование проводили на 18 белых беспородных половозрелых крысах-самцах массой 180-200 г с перевивной опухолью саркомой 45, перевитой подкожно в заднюю боковую поверхность спины справа введением 0,5 мл 30% взвеси опухолевых клеток в физиологическом растворе. В основной группе (12 крыс) воздействие РИ с частотой 1 ГГц и плотностью потока мощности менее 50 мкВт/см<sup>2</sup> начинали по достижении опухоли размеров 0,7-1,2 см<sup>3</sup>, для чего использовали аппарат «Акватор». Воздействие на голову животного проводилось в течение 3-4 недель по 4 сеанса в неделю. Изменение экспозиции в течение курса в пределах 3-10 мин производили в соответствии с режимами активационной терапии, добиваясь развития антистрессорных адаптационных реакций [1]. В ходе эксперимента 1-2 раза в неделю по показателям лейкоцитарной формулы крови оценивали характер адаптационной реакции [1]. Объем опухоли определяли 3 раза в неделю общепринятым методом, рассчитывая его по формуле Шрека для эллипсоидов –  $a \cdot b \cdot c \cdot \pi / 6$  см<sup>3</sup>, где a, b и c – максимальные диаметры опухолевого узла (в см) в 3-х взаимно перпендикулярных плоскостях. Контрольную группу составили 6 крыс с саркомой 45, не получавшие воздействия. В конце эксперимента крыс декапитировали под эфирным наркозом. Опухоли выделяли, фиксировали в растворе Карнуа и изготавливали парафиновые блоки по общепринятой методике. Для светооптического изучения срезы окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван-Гизону. Для электронной микроскопии материал забирали послойно от периферии опухоли к центру, соответственно маркируя. Двойная фиксация забуференными растворами глутаральдегида и OsO<sub>4</sub>, а также дальнейшая обработка материала проводилась по общепринятой методике. Ультратонкие срезы, полученные методом прицельной ультратомии на ультрамикротоме УМТП-4 изучали с помощью электронного микроскопа Philips EM 208. Для морфометрических исследований был использован автоматизированный измерительный комплекс «САГА» на базе ПК. Измерения площадей проводили при объективе x20 (каждое 3-е поле зрения), а подсчет клеточного состава в опухоли - при иммерсионном объективе x100 (каждое 10-е поле зрения). Достоверность различий между значениями показателей (имеющими нормальное распределение) определяли по коэффициенту Стьюдента (t).

Результаты исследования. В контрольной группе животных к концу эксперимента средний размер саркомы 45 составил  $11,0 \pm 1,2$  см<sup>3</sup>. Преобладавшей адаптационной реакцией у крыс рассматриваемой группы был хронический стресс по Г. Селье, характеризовавшийся выраженными признаками иммунодепрессии в микрокартине органов иммунной системы, тимуса и селезенки – значительной гипоплазией лимфоидной ткани, многочисленностью групп дегенеративно измененных лимфоцитов, нарушением процессов созревания и

дифференцировки лимфоцитов, нормального состояния микроциркуляторного русла исследованных органов.

В основной группе в результате курсового воздействия РИ в режимах активационной терапии у 6-ти из 12-ти крыс (50% случаев) был получен противоопухолевый эффект, заключающийся в торможении роста опухоли на 83% (4 случая,  $p < 0,05$ ) или её частичной регрессии на 30-40% (от 1,5-1,6 см<sup>3</sup> до 0,9-1,0 см<sup>3</sup> – 2 случая). При торможении роста опухоли объем саркомы 45 в конце эксперимента не превышал 2 см<sup>3</sup>. У остальных крыс основной группы размеры опухоли не отличались от контрольных значений. При этом противоопухолевый эффект РИ четко коррелировал с развитием в организме животных адаптационных реакций спокойной и повышенной активации [1]. Известно, что именно эти антистрессорные реакции (в наибольшей степени - реакция повышенной активации) способствуют значительному увеличению неспецифической противоопухолевой резистентности организма. Они имеют общие черты и ряд системных отличий (на которых мы здесь не будем останавливаться). Рассматриваемые реакции, в отличие от реакции стресс, характеризуются активизацией лимфопролиферативных процессов и межклеточных взаимодействий в органах иммунной системы [1]. Так, у животных с торможением и частичной регрессией саркомы 45 относительное содержание лимфоцитов в периферической крови находилось в диапазоне 60 - 80%. При этом в тимусе отмечалось увеличение размеров долек, преобладание коркового вещества над мозговым, выраженный слой лимфобластных форм в субкапсулярной зоне (широкоплазменные, пиронинофильные лимфоидные клетки при окраске по Браше), признаки повышения активности тканевых базофилов, усиления их контактов с тимоцитами. В селезенке наблюдалось увеличение числа и размеров герминативных центров, признаки митотической активности, расширение тимус зависимых зон, образование комплексов-ассоциатов спленоцитов и макрофагов в красной пульпе. В надпочечниках при развитии этих реакций, в отличие от реакции стресс, не отмечалось выраженной гиперплазии коркового слоя и признаков угнетения минералкортикоидной функции. Изменения в состоянии других эндокринных желез, также имеющие выраженные особенности, характерные для реакций спокойной или повышенной активации [1], в данном исследовании не изучались.



а (ув. х200)

б (ув. х400)

**Рис. 1.** Саркома 45. Рост опухоли при отсутствии специальных воздействий (контрольная группа):

а) Под тонкой капсулой расположен сплошной массив опухолевых клеток.

б) Веретенообразные опухолевые клетки плотно расположены, межклеточные пространства не выражены, видны многочисленные фигуры митоза (10 шт. в данном поле зрения).

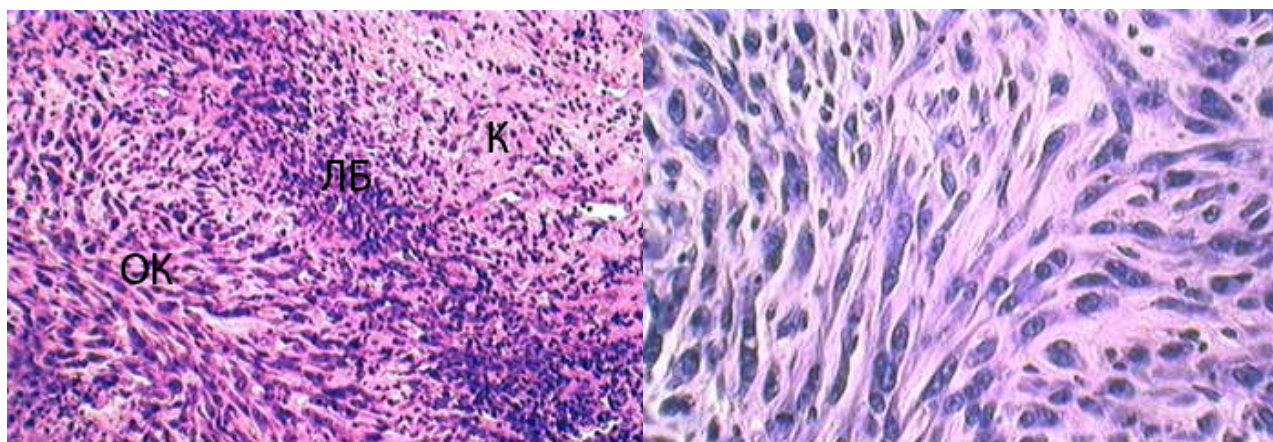
а, б – окраска гематоксилином и эозином.

Гистологическая картина опухолевого узла животных контрольной группы (табл. 1, рис. 1 а, б) характеризовалась наличием тонкой капсулы (не более 45 мкм, рис. 1а), прерывавшейся в местах прорастания опухолевых клеток в подкожную жировую клетчатку, плотным расположением хаотично ориентированных веретенообразных клеток с крупными ядрами, несколькими ядрышками, многочисленными фигурами митоза и относительно небольшим объемом цитоплазмы (рис. 1б). При окраске по Ван-Гизону в межклеточных пространствах слабые следы коллагена выявлялись только на отдельных участках. Все эти признаки указывали на активную пролиферацию и низкую степень дифференцировки опухолевых клеток. Лимфоплазмоцитарная инфильтрация среди опухолевых клеток встречалась крайне редко. В опухоли наблюдались обширные поля кровоизлияний, вызванные аррозией сосудов, что приводило к образованию в центральной части опухолей полости, заполненной геморрагическим содержимым и некротическими массами.

**Таблица 1**

Изменения микрокартины ткани саркомы 45 при торможении роста и частичной регрессии опухоли под влиянием резонансного излучения (РИ). Световая микроскопия.

Исследованная группа	Капсула		Плотность расположения клеток	Наличие коллагена в межклеточном пространстве	Выраженность лимфоцитарной инфильтрации
	толщина (мкм)	непрерывность			
Контрольная	до 45	нарушена	высокая	следы	Слабая
Основная, РИ	200-300	сохранена	снижена	обилие в большинстве	умеренная и высокая



а (ув. х200)

б (ув. х400)

**Рис. 2.** Саркома 45. Частичная регрессия опухоли под влиянием микроволнового резонансного излучения (основная группа):

а) Под толстой капсулой (К), инфильтрированной лимфоцитами, виден лимфоцитарный барьер (ЛБ) на границе с пластами опухолевых клеток (ОК);

б) Веретенообразные опухолевые клетки имеют крупное ядро и обильную цитоплазму, между ними видны широкие межклеточные пространства, заполненные коллагеном.

а, б – окраска гематоксилином и эозином.

Изменения ткани опухоли при выраженном торможении и частичной регрессии под влиянием РИ имели ряд сходных черт (табл. 1, рис. 2 а, б). Так, и в тех и в других случаях значительно увеличивалась толщина капсулы (табл.1, рис 2а). Обращало на себя внимание обилие цитоплазмы в опухолевых клетках, а также значительное увеличение размеров межклеточных пространств (рис. 2б). Фигуры митоза отмечались редко (единичные – в

случаях частичной регрессии). Инфильтрирующие опухоль иммунные клетки наблюдались в капсуле, непосредственно под ней в зоне зрелой соединительной ткани, а также в виде лимфоплазмочитарного барьера в зоне молодой соединительной ткани (шириной 145-165 мкм) на границе с опухолью (рис 2б). Различное количество лимфоцитов и плазматических клеток наблюдалось и непосредственно среди опухолевых клеток. В сосудах, располагавшихся среди опухолевых клеток, часто отмечались мигрирующие лимфоциты. Центральная часть опухоли не имела некротической полости, кровоизлияния и некрозы наблюдались редко и на небольших участках.

Количественные характеристики этих изменений в целом для случаев торможения роста и регрессии опухоли были получены в результате морфометрических исследований. Так, данные, представленные в таблицах 2 и 3, свидетельствовали о значительном снижении площади паренхимы (в 1,6 раза), плотности расположения клеток опухоли (в 1,9 раза), числа фигур митозов (в 1,5 раза), размеров участков некроза и кровоизлияний (примерно, в 3 раза) и резком увеличении относительной площади стромы (в 32 раза). Под влиянием РИ число инфильтрирующих ткань опухолей иммунокомпетентных клеток увеличилось почти в 3 раза (табл. 3).

**Таблица 2**

Соотношение основных структурных компонентов в опухолевом узле ( $M \pm m$  %) при торможении роста и частичной регрессии саркомы 45 под влиянием резонансного излучения (РИ)

Исследованная группа	Структурный компонент			
	соединительная ткань	клетки опухоли	зоны некроза	кровоизлияния
Контрольная	1,4±0,1	69,5±3,8	19,1±2,2	10±1,5
Основная, РИ	46,1±16,8*	44,1±19,6*	6,3±2,3*	3,4±2,6*

Примечание: \* – достоверно отличается от значений в контроле ( $p < 0,05$ )

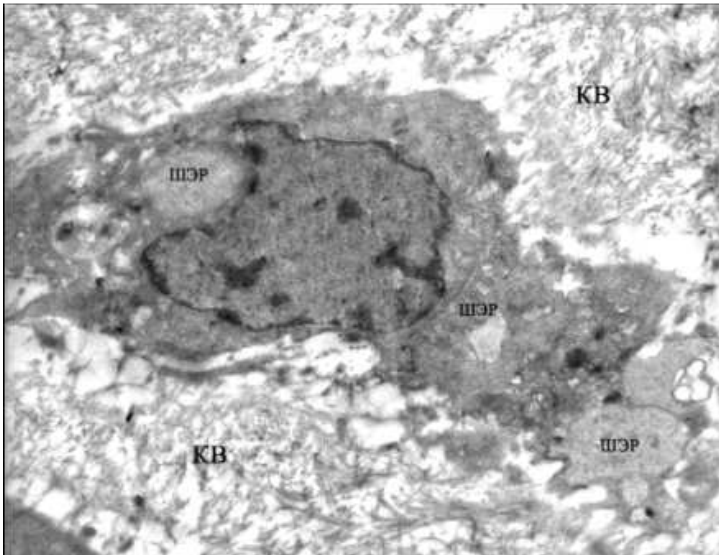
**Таблица 3**

Митотическая активность и клеточный состав опухолей при торможении роста и частичной регрессии саркомы 45 под влиянием резонансного излучения (РИ)

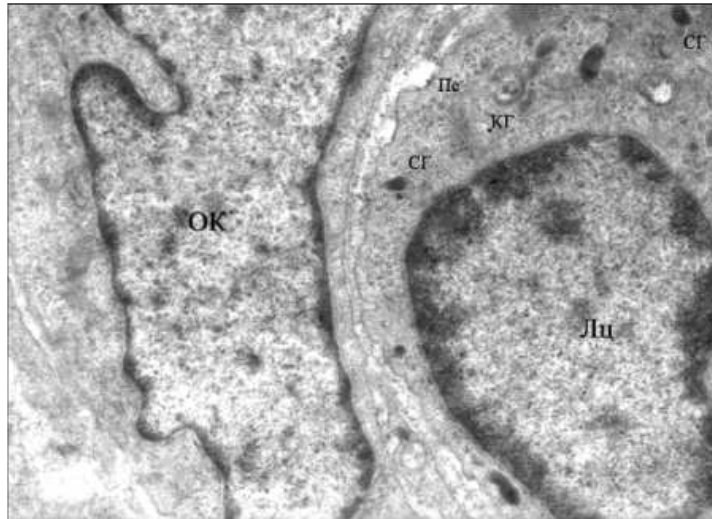
Исследованная Группа	Плотность кл. в 1 поле зрения	Митотическая активность (%)	Кол-во на 1000 опух. клеток	
			лимфоцитов	плазмоцитов
Контрольная	42±6,5	14,4±9,3	50,6±5,3	0
Основная, РИ	22,1±2,8*	9,3±0,9*	141,5±17,6*	6,2±1,1*

Примечание: \* – достоверно отличается от значений в контроле ( $p < 0,05$ ); площадь одного поля зрения - 6787 мкм<sup>2</sup>.

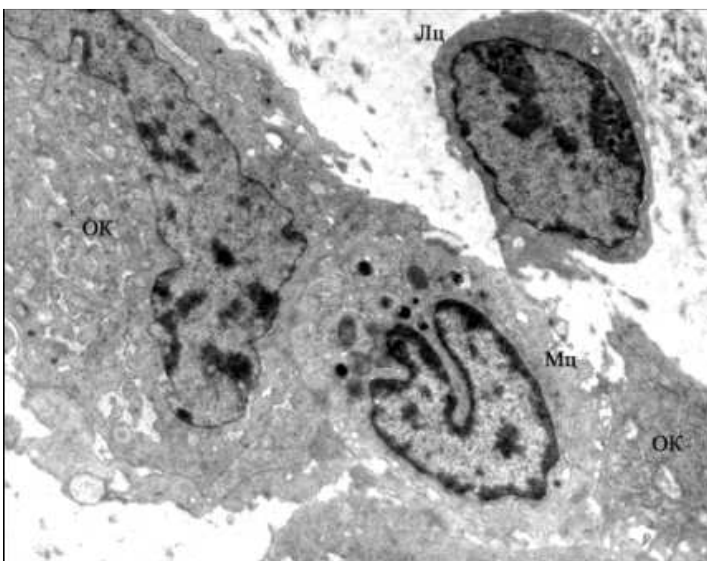
Необходимо отметить, что при торможении роста и частичной регрессии саркомы 45 под влиянием РИ расширенные межклеточные пространства были заполнены коллагеновыми волокнами (подтверждено окраской по Ван-Гизону), что в совокупности с данными об увеличении объема цитоплазмы и снижении митотической активности, по нашему мнению, указывало на более высокую дифференцировку опухолевых клеток в этих случаях.



**Рис. 3а.** ШЭР – шероховатый эндоплазматический ретикулум, КВ – коллагеновые волокна. (ув.  $\times 10\,000$ ).



**Рис. 3б.** ОК – опухолевая клетка, Лц – лимфоцит, Пс – полисомы, КГ – комплекс Гольджи, СГ – секреторные гранулы. (ув.  $\times 20\,000$ ).



**Рис. 3в.** Мц – моноцит, ОК – опухолевая клетка, Лц – лимфоцит. (ув.  $\times 14\,000$ ).

Результаты электронно-микроскопического исследования подтвердили справедливость данного предположения. Так, у крыс контрольной группы межклеточные пространства выглядели «пустыми», клетки саркомы 45 имели плотную цитоплазму, бедную органеллами, с плохо развитым шероховатым эндоплазматическим ретикулумом. При торможении роста и регрессии опухоли в обильной цитоплазме клеток наблюдались многочисленные расширенные цистерны шероховатого эндоплазматического ретикулума, заполненные фибриллярным содержимым, что свидетельствовало о его активном синтезе в клетке (рис. 3а). На границе клеток часто был виден выход протофибрилл коллагена в межклеточное пространство. Регулярно встречались гибнущие клетки с выраженными признаками дистрофии и дегенерации, а также фрагменты разрушенных опухолевых клеток, «замурованные» в синтезированном и выделенном ими ранее коллагене. Обращали на себя внимание многочисленные контакты цитоплазматических выростов активированных лимфоцитов с клеточной поверхностью опухолевых клеток (рис. 3б). Причем, иногда с одной клеткой саркомы 45 контактировало несколько лимфоцитов. Кроме того, часто наблюдались одновременные контакты клеток иммунной системы между собой (лимфоцит – лимфоцит, лимфоцит – макрофаг) и с опухолевыми клетками (рис. 3в).

Явление как бы «вызревания»

опухолей под непосредственным воздействием различных веществ или физических факторов отмечено давно, как в культуре клеток и эксперименте, так и в клинической практике. В настоящее время известны десятки химических веществ, биологических продуктов и физических факторов, влияющих на дифференцировку клеток различного гистогенеза, как *in vitro*, так и *in vivo* [5]. Интересным представляется тот факт, что в данном эксперименте воздействие на опухоль было опосредованным и не носило повреждающего характера. Обнаруженные при электронномикроскопическом исследовании многочисленные межклеточные контакты позволяют предполагать наличие в иммунных клетках факторов, приводящих к повышению дифференцировки опухолевых клеток. Это вполне соответствует данным современной литературы, свидетельствующим о ведущей роли лимфоцитов (особенно, Т-лимфоцитов) в регуляции клеточного роста и дифференцировки не только иммунных, но и любых соматических клеток в организме [2].

Таким образом, полученные результаты позволяют говорить о том, что при воздействии РИ в режиме активационной терапии на структуры головного мозга крыс с саркомой 45, приводящем к развитию антистрессорных адаптационных реакций спокойной и повышенной активации, может происходить активизация клеток иммунной системы и усиление их взаимодействия с опухолевыми клетками. Это обуславливает не только непосредственное повреждение клеток опухоли, но и повышение степени их дифференцировки и, как следствие, сокращение продолжительности их жизни, что способствует снижению скорости роста и частичной регрессии саркомы 45 в целом.

Литература.

Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Кузьменко Т.С., Шихлярова А.И. Антистрессорные реакции и активационная терапия. Екатеринбург, 2002.

Донцов В.И. // Профилактика старения. 1998. Вып. 1. С. 40-63.

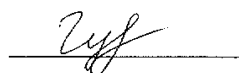
Жукова Г.В., Гаркави Л.Х., Марьяновская Г.Я. и др. // Биомедицинские технологии и электроника. М., 2005. №6. С. 3-9.

Синицын Н.И., Петросян В.И., Елкин В.А. // Радиотехника. 2000. № 8. С. 83-93.

Хмелевский Е.В., Харченко В.П. // Вопр. онкол. 2006. Т. 52, № 2. С. 215-221.

**Авторы:**

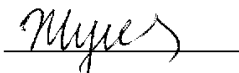
Гудцкова Татьяна Николаевна (Gudzkova T.N.)



Адрес: 344092 г. Ростов-на-Дону, ул. Добровольского 15/3, кв. 60. Т.р. (863) 255-12-72,

т.с. 8-951-531-05-29, E-mail: [tochka63@mail.ru](mailto:tochka63@mail.ru).

Жукова Галина Витальевна (Zhukova G.V.)



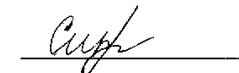
Адрес. 344113 г. Ростов-на-Дону, просп. Королева, 11/2, кв. 53, Т.р. (863) 250-67-96, т.с.

8-908-194-29-99, e-mail: [galya\\_57@mail.ru](mailto:galya_57@mail.ru)/

Гаркави Любовь Хаимовна (Garkavi L.H.)



Суханова Марина Игоревна (Sukhanova M.I.)



Евстратова Ольга Федоровна (Evstratova O.F.)



Бартенева Татьяна Альбертовна (Barteneva T.A.)

