

САЗАНОВ Артем Иванович

**ВЛИЯНИЕ ОЗОНИРОВАННОГО ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО РАСТВОРА
НА МИКРОЭЛЕМЕНТНЫЙ СОСТАВ ТКАНЕЙ ЖИВОТНЫХ-
ОПУХОЛЕНОСИТЕЛЕЙ**

Специальность 03.01.04 – биохимия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Нижний Новгород

2012

Работа выполнена на кафедре клинической лабораторной диагностики ФПКВ в Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Нижегородская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор биологических наук, профессор **Клавдия Николаевна Конторщикова**

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук, профессор **Александр Сергеевич Корягин**

доктор медицинских наук, профессор **Сергей Петрович Перетягин**

Ведущая организация:

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздравсоцразвития России, г. Ростов-на-Дону

Защита состоится 15 ноября 2012 г. в 15.00 часов на заседании диссертационного совета Д 212.166.15 при Нижегородском государственном университете им. Н.И. Лобачевского по адресу: 603950, Н. Новгород, пр. Гагарина, д. 23, корп. 1, биологический факультет.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ННГУ им. Н.И. Лобачевского

Автореферат разослан 12 октября 2012 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета

доцент, к.б.н.

С.В.Копылова

Актуальность проблемы

Онкологические заболевания прочно удерживаются среди лидеров по смертности наряду с сердечно-сосудистыми. Изучение механизмов развития злокачественных новообразований имеет большое значение. Опухолевый рост характеризуется нарушением многих видов обмена, среди которых можно выделить: нарушение микроэлементного статуса организма и нарушение баланса свободнорадикального окисления (Скальный А.В., 1997; Щербатюк, 1997; Aiba, 1999; Khuri, 2000; Алясова, Конторщикова, Шахов, 2006). Микроэлементы играют важную роль в процессах роста, дифференцировки, репарации, регенерации, апоптоза, некроза, выживаемости клеток. Дисбаланс микроэлементов сопутствует или, в некоторых случаях, служит отправной точкой развития различной аллергической, аутоиммунной и опухолевой патологии (Алясова, Конторщикова, Коркоташвили, 2003; Кудрин, Громова, 2007). Расшифровка механизмов нарушений обмена микроэлементов при опухолевом росте и разработка способов коррекции выявленных нарушений представляет собой одну из актуальнейших фундаментальных проблем современной биологии и медицины.

Для лечения злокачественных опухолей наряду с хирургическим удалением применяют лучевую терапию и химиотерапию. Однако использование этих методов не позволяет получить полного уничтожения опухолевых клеток, часть их способна ускользать от действия противоопухолевых агентов, длительно сохраняться в организме в условиях анабиоза, а в последующем участвовать в формировании метастазов и являться причиной гибели опухоленосителя. Кроме того, злокачественные клетки могут обладать резистентностью к противоопухолевым препаратам, наличие которой затрудняет лечение и значительно ухудшает прогноз. Разработка методов потенцирования действия противоопухолевых агентов представляется весьма актуальной и находит отражение в научных исследованиях последних лет.

Положительный эффект использования озона при злокачественном росте доказан многочисленными исследованиями зарубежных и отечественных авторов (Варро, 1974; Sweet et al, 1980; Wolf, 1982; Arnan, DeVries, 1983; Stulz, Wagner, 1997; Щербатюк, 1997; Гончарова, 1998; Конторщикова, Щербатюк, 1999; Алясова, Конторщикова, Терентьев, 2000). Одним из методов озонотерапии является введение озонированного физиологического раствора (ОФР) (Перетягин, 1991; Конторщикова, 1992; Масленников, Конторщикова, 1999;) Как известно ОФР корректирует про- и антиоксидантный баланс организма, снижает активность антиоксидантной защиты опухолевой ткани и приводит к активации свободнорадикальных реакций. Всё это в сумме обуславливает нарушение метаболизма опухолевых клеток и, в конечном итоге, их гибель.

С целью повышения эффективности химиотерапии разработаны различные медикаментозные и немедикаментозные методы. Однако сочетанное воздействие цитостатиков и низких физиологических концентраций озона на опухолевую ткань остается недостаточно изученным.

Цель и задачи исследования

Целью работы является исследование уровней микроэлементов при опухолевом росте и различных способах коррекции неопластического процесса.

Соответственно поставленной цели решались следующие задачи:

1. Исследовать в плазме крови, нормальных и опухолевых тканях животных–опухоленосителей содержание микроэлементов (Zn, Cu, Mn, Mo, Co, Fe, Cd, Ni, Cr, Si, Al, Ba, Cd).
2. Провести сравнительный анализ содержания микроэлементов на фоне озонотерапии, доксорубицина, и при сочетанном применении озонированного физиологического раствора и доксорубицина.
3. Оценить уровень перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты различных тканей при введении озонированного физиологического раствора, доксорубицина и сочетанного введения озонированного физиологического раствора и доксорубицина.

Научная новизна

Впервые у животных-опухоленосителей проведён анализ микроэлементного состава в тканях печени, почках, мозге, лёгком, сердце, опухоли и плазме крови.

Оценено влияние на микроэлементный состав различных способов воздействия (доксорубицин, озонированный физиологический раствор, сочетания озонированного физиологического раствора и доксорубицина).

Проведено исследование свободнорадикального окисления различных тканей (печень, почки, мозг, лёгкое, сердце, опухоль, плазме крови) у животных под влиянием доксорубицина, озонированного физиологического раствора и сочетанного введения озонированного физиологического раствора и доксорубицина.

Проведён морфологический анализ влияния на злокачественную опухоль доксорубицина, озонированного физиологического раствора и сочетания озонированный физиологический раствор и доксорубицин.

Оценена взаимосвязь микроэлементного состава, показателей перекисного окисления липидов, свободнорадикального окисления в гомогенате тканей животных-опухоленосителей.

Теоретическая и практическая значимость работы

Оценено регулирующее влияние низких концентраций озона на изменение концентраций микроэлементов в нормальных и патологически измененных опухолевым процессом тканях.

Выявленные изменения микроэлементного состава тканей здоровых животных и животных-опухоленосителей на фоне различных воздействий могут иметь большое значение для раскрытия общебиологических механизмов развития опухолевого процесса.

Отмечено потенцирующее действие озонированного физиологического раствора в отношении противоопухолевого эффекта цитостатиков, одним из механизмов которого является изменение обмена микроэлементов в организме опухоленосителя. Изученный характер распределения микроэлементов при опухолевом процессе позволит дополнить и усовершенствовать существующие способы лечения, что положительным образом скажется на показателях выздоровления и улучшит качество жизни больного.

Результаты исследования могут быть использованы в преподавании курсов по биохимии для студентов вузов биологического и медицинского профиля.

Положения, выносимые на защиту

1. Неопластический процесс сопровождается нарушением баланса микроэлементов в различных тканях по сравнению с интактными животными.
2. Изменение уровней микроэлементного состава в тканях животных-опухоленосителей связано с активностью свободно-радикальных процессов.
3. Введение озонированного физиологического раствора в сочетании с доксорубицином обеспечивает сохранение баланса микроэлементов в различных тканях и снятие металлодепрессивного действия доксорубицина, что обеспечивает эффективность противоопухолевого воздействия.

Апробация работы

Результаты работы представлены на IX юбилейной научной сессии молодых учёных и студентов «Современное решение актуальных проблем в медицине» (Нижний Новгород, 2010), Международный симпозиум федерации европейских обществ по изучению макро- и микроэлементов «Макро- и микроэлементы в медицине и биологии» (Санкт-Петербург, 2010), 15 Нижегородской сессии молодых учёных (Нижний Новгород, 2010), III Всероссийском конгрессе с международным участием студентов и аспирантов-биологов «Симбиоз-Россия 2010» (Нижний Новгород, 2010), V украинско-русской научно-практической конференции IV азиатско-европейской научно-практической конференции «Озон в биологии и медицине» (Одесса, 2010), X-ой научной сессии молодых учёных и студентов (Нижний Новгород, 2011), IOAIUVA World Congress «Ozone and UV: Leading-edge science and technologies» (Paris, 2011)

Публикации

По материалам диссертации опубликованы 12 работ, в том числе 5 в изданиях, рекомендуемых ВАК Министерства образования и науки РФ.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа в объеме ____ листов состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследований, собственных результатов и их обсуждения, выводов и списка цитированной литературы.

Диссертационная работа иллюстрирована __ рисунками и __ таблицами.

Библиографический указатель включает __ источников литературы (____ отечественных и __ иностранных).

Автор выражает искреннюю благодарность своему научному руководителю Клавдии Николаевне Конторщиковой за неоценимую помощь, мудрые советы, понимание и терпение. Автор благодарит за совместную работу к.х.н., в.н.с. Пименова В.Г., асп. Евдокимова И.И., д.б.н. Иванову И.П., к.б.н. Тихобразову О.П., Архипову Е.В., Кирилова А.А., д.м.н., проф. Кузнецова С.С., к.б.н., доц. Веселову Т.А. Автор высказывает особую благодарность коллективу кафедры клинической лабораторной диагностики ФПКВ за помощь и поддержку.

Материалы исследования

Материалы исследования

Исследование выполнено на лабораторных животных — белых нелинейных крысах-самках (75 особей) массой 250 ± 10 г. Эксперименты проводились в соответствии с требованиями нормативных правовых актов, регламентирующих

выполнение исследований по безопасности и эффективности фармакологических веществ в РФ (Приказ МЗ РФ «Об утверждении правил лабораторной практики» №267 от 19.06.2003 г.) и международных правил правовых и этических норм.

Модель неоплазии создавали перевивкой штамма рака молочной железы РМК-1 подкожно в область правой подмышечной впадины. Штамм опухоли приобретен в Банке опухолевых штаммов РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН (г. Москва).

Животных вводили в эксперимент на 45-е сутки после перевивки опухоли, объем которой к этому времени достигал 6—8 см³. Животные были разделены на 5 групп по 15 особей в каждой:

Первая группа – контрольная - животные с перевитой злокачественной опухолью молочной железы РМК-1.

Вторая группа – животные - опухоленосители с внутрибрюшинным введением противоопухолевого препарата в дозе 0,04 мг на особь через день. Всего 5 процедур.

Третья группа – животные - опухоленосители с внутрибрюшинным введением озонированного физиологического раствора в объёме 0,02 мл с дозой озона 20 мкг. Всего 6 процедур через день.

Четвёртая группа - животные - опухоленосители с чередованием 6 инъекций озонированного физиологического раствора и 5 инъекций противоопухолевого препарата.

Пятая группа - интактные животные.

В качестве противоопухолевого препарата использовался противоопухолевый антибиотик антрациклинового ряда доксорубин.

Озонированный физиологический раствор (ОФР) получали барботажем 0,9% NaCl-озонно-кислородной смесью с использованием серийного отечественного генератора озона «Квазар» (Н.Новгород). Концентрацию озона в физиологическом растворе определяли с помощью анализатора концентраций ИКОЖ-5 (г. Киров).

На 11-е сутки после начала эксперимента под эфирным наркозом осуществляли декапитацию животных и забор тканей: кровь, печень, почки, мозг, сердце, лёгкое, опухоль.

Отбор проб, их подготовка и автоклавный метод минерализации для анализа микроэлементного состава тканей проводили согласно методическому указанию (МУК 4.1.985-00).

Спектр микроэлементов анализировался на базе Института химии высокочистых веществ РАН (ИХВВ РАН), с использованием атомно-эмиссионного спектрометра с индуктивно связанной плазмой АЭС и ИСП Модель i CAP 6300 INTERTECH Corporation (США).

Свободно-радикальное окисление оценивалось методом индуцированной хемилюминесценции (Кузьмина, 1983). Исследование активности перекисного окисления липидов включало измерение уровней диеновых конъюгатов (ДК), триеновых конъюгатов (ТК), оснований Шиффа (ОШ) методом И.А. Волчегорского и др. (1989).

Гистологическое исследование опухолевой ткани осуществлялось общепринятым способом. Препараты фиксировали раствором эозин-метиленового

синего по Май–Грюнвальду и окрашивали азур–эозиновым красителем по Романовскому в течение 3 минут.

Для статистической обработки полученных результатов применен ряд общеизвестных методов, принятых в биологической и медицинской статистике. При подсчете медиан (Me) с вычислением 25% и 75% квантилей, коэффициентов достоверности (p) по критериям Манна-Уитни, используя поправку Бонферрони рангового дисперсионного анализа Краскела-Уоллиса, коэффициентов корреляции по Спирмену, были использованы пакеты программ BioStat 2008 Professional и Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Содержание микроэлементов в тканях здоровых животных, крыс-опухоленосителей при различных экспериментальных условиях

В плазме крови животных интактной группы был выявлен Cr (табл.1), который по современной классификации относят к эссенциальным элементам (Кудрин, Громова, 2007). В норме организм содержит небольшие количества хрома, его физиологическая концентрация не обладает канцерогенным или токсическим действием. В интактной группе не были идентифицированы такие токсичные элементы как Al, Ba, Cd, но они обнаружены у животных-опухоленосителей (табл.1). В литературе нет достоверных данных об эссенциальности кадмия, однако имеются сведения, подтверждающие его генотоксичность и канцерогенность в экспериментальных моделях (OldigesH. et al., 1984,1989). Присутствие кадмия при одновременном снижении уровня цинка в контрольной группе подтверждает их антагонистическое взаимоотношение. Токсичность и мутагенность бария не установлена, в незначительных количествах он находится во всех органах и тканях организма (Кудрин, Громова, 2007). Данных об эссенциальной роли алюминия в организме человека и животных нет, и, учитывая отсутствие специальных диет, можно предположить, что присутствие алюминия в плазме носит скорее случайный характер.

Среди ряда определяемых микроэлементов наиболее выраженное повышение по сравнению с интактной группой отмечено у опухоленосителей для Cu. Уровень меди статистически значимо возрос на 42% (табл.1). Уровень цинка, напротив, статистически значимо снизился на 58%. Избыток меди, возникающий в организме, приводит к дефициту цинка, что показано в нашем исследовании, и согласуется с данными литературы. Кроме того, отмечено статистически значимое увеличение содержания уровня Si у животных-опухоленосителей по сравнению с интактными на 15%.

В плазме крови животных-опухоленосителей с введением ДР наблюдалась общая тенденция к повышению количества микроэлементов по сравнению со здоровыми животными и животными-опухоленосителями за исключением Fe и Zn (табл. 2). У животных-опухоленосителей с введением ДР статистически значимо по сравнению с интактной группой увеличивался уровень Cu на 65% (табл.2).

Содержание микроэлементов в плазме крови у интактных крыс и крыс-
опухоленосителей
(Ме, 25% ÷ 75 %)

Плазма			
Элемент (г/500 мкл)	Интактные животные (Ме, 25%÷75%)	Контрольная группа (Ме, 25%÷75%)	p
Al		4,72E-06 (2,76E-06÷5,59E-06)	
Ba		1,05E-08 (9,00E-09÷1,13E-08)	
Cd		5,25E-09 (5,25E-09÷2,63E-08)	
Cr	2,93E-08 (2,70E-08÷3,04E-08)		
Cu	7,13E-07 (6,29E-07÷8,60E-07)	1,01E-06 (9,14E-07÷1,11E-06)	0,00057
Fe	8,91E-07 (7,19E-07÷1,21E-06)	8,64E-07 (5,29E-07÷1,25E-06)	
Mn	9,60E-09 (9,08E-09÷2,05E-08)	1,50E-08 (1,35E-08÷1,65E-08)	
Si	1,18E-05 (8,84E-06÷1,27E-05)	1,35E-05 (1,04E-05÷1,52E-05)	0,016
Zn	7,92E-07 (6,95E-07÷8,70E-07)	3,29E-07 (2,95E-07÷3,59E-07)	0,000027

Наряду с общим накоплением Cu в плазме крови животных-опухоленосителей, наблюдалось снижение уровня Zn. Данная тенденция является неблагоприятной, так как соотношение Zn/Cu, при увеличении уровня Cu и снижении цинка, имеет большое значение для старта и развития онкологических заболеваний. У животных-опухоленосителей с введением ДР наблюдалось статистически значимое увеличение на 36% количества Zn по сравнению с опухоленосителями контрольной группы.

В плазме крови животных-опухоленосителей после введения ОФР обнаружено статистически значимое повышение уровня меди по сравнению с группой здоровых животных на 47% (табл. 2). Наряду с общей тенденцией увеличения уровня микроэлементов у животных-опухоленосителей по сравнению со здоровыми животными количество железа и цинка, наоборот, снижается. Наблюдается статистически значимое снижение уровня железа на 45% у опухоленосителей с введением ОФР по сравнению с интактной группой и статистически значимое снижение на 43% по сравнению с крысами-опухоленосителями. Уровень цинка статистически значимо на 45% снизился у животных-опухоленосителей с введением озона по сравнению с интактными животными (табл. 2).

Таблица 2

Содержание микроэлементов в плазме интактных крыс, опухоленосителей и при различных воздействиях

Элемент (г/500 мкл)	Интактные животные (Ме, 25%÷75%)	Контрольная группа (Ме, 25%÷75%)	Опухоленосители с введением ДР (Ме, 25%÷75%)	Опухоленосители с введением ОФР (Ме, 25%÷75%)	Опухоленосители с введением ОФР и ДР (Ме, 25%÷75%)	p
Cu	7,13E-07 (6,29E-07÷8,60E-07)	1,01E-06 (9,14E-07÷1,11E-06)	1,18E-06 * (1,02E-06÷1,28E-06)	1,05E-06 * (9,73E-07÷1,20E-06)	1,04E-06 * (9,73E-07÷1,18E-06)	*ДР - 0,00001 *ОФР - 0,00004 *ОФР и ДР - 0,00008
Fe	8,91E-07 (7,19E-07÷1,21E-06)	8,64E-07 (5,29E-07÷1,25E-06)	7,49E-07 (5,16E-07÷1,80E-06)	4,89E-07*Δ (4,09E-07÷6,45E-07)	3,91E-07*Δ □ (3,44E-07÷4,94E-07)	*ОФР - 0,005 ΔОФР - 0,016 *ОФР и ДР - 0,0003 ΔОФР и ДР - 0,001 □ - 0,0065
Mn	9,60E-09 (9,08E-09÷2,05E-08)	1,50E-08 (1,35E-08÷1,65E-08)	1,80E-08 (1,42E-08÷2,14E-08)	1,41E-08 (1,35E-08÷2,07E-08)	9,75E-09 □◇ (8,63E-09÷1,01E-08)	□ - 0,0011 ◇ - 0,0011
Ni				1,69E-07 (1,28E-07÷2,94E-07)		
Si	1,18E-05 (8,84E-06÷1,27E-05)	1,35E-05 (1,04E-05÷1,52E-05)	1,36E-05 (1,10E-05÷1,67E-05)	9,52E-06 (8,52E-06÷1,53E-05)	1,29E-05 (8,76E-06÷1,43E-05)	
Zn	7,92E-07 (6,95E-07÷8,70E-07)	3,29E-07 (2,95E-07÷3,59E-07)	4,47E-07Δ (3,25E-07÷6,62E-07)	4,04E-07 * (3,27E-07÷4,53E-07)	3,66E-07 * (3,29E-07÷4,08E-07)	ΔДР - 0,021 *ОФР - 0,00001 *ОФР и ДР - 0,0000

*- статистически значимые различия по сравнению с интактной группой(p≤0,05)

Δ - статистически значимые различия по сравнению с опухоленосителями(p≤0,05)

● - статистически значимые различия между опухоленосителями с введением ДР и опухоленосителями с введением ОФР(p≤0,05)

□ - статистически значимые различия между опухоленосителями с введением ДР и опухоленосителями с введением ОФР и ДР(p≤0,05)

◇ - статистически значимые различия между опухоленосителями с введением ОФР и опухоленосителями с введением ОФР и ДР(p≤0,05)

При сочетанном использовании ОФР и ДР уровень железа и цинка у животных-опухоленосителей статистически значимо по сравнению со здоровыми животными снизился на 56% и 54%, соответственно (табл. 2). В плазме крови крыс с сочетанным введением озона и доксорубина наблюдалось статистически значимое накопление меди, её уровень увеличился на 46% по сравнению со здоровыми животными (табл. 2)

Содержание железа в *плазме крови* у животных-опухоленосителей при сочетанном введении ОФР и ДР статистически значимо было ниже на 48% у животных с введением только ДР (табл. 2). Количество марганца в плазме крови у опухоленосителей после воздействия ОФР и ДР статистически значимо отличалось от опухоленосителей с введением ДР и от опухоленосителей с введением ОФР. По сравнению с опухоленосителями с введением ДР снижение количества марганца составило более 45%, а по сравнению с опухоленосителями с введением ОФР уровень марганца снизился на 31% (табл. 2). Необходимо отметить, что количество марганца после сочетанного введения ОФР и ДР практически не отличалось от такового у здоровых животных. Результат сочетанного действия ОФР и ДР положительно сказался на уровне марганца, который не отличался от такового у здоровых животных.

При анализе микроэлементного состава *опухолевой ткани*, только в группе с введением ОФР был выявлен алюминий (табл. 3). Данных об эссенциальной роли алюминия в организме человека и животных не обнаружено. Во всех исследуемых нами группах животных, кроме контрольной, был выявлен важный эссенциальный элемент хром (табл. 3). Имеются доказательства мутагенных и канцерогенных свойств хрома, связанных с подавлением стабильности синтеза ДНК и с активацией оксидативного повреждения ДНК (O'Brien, Kortenkamp, 1994; Stearnsetal., 1994; Sugiyama, 1994; Snow, 2003). О распределении хрома в организме сведений недостаточно, а информация о его распределении в опухоли отсутствует У животных-опухоленосителей контрольной группы, в группах с введением ОФР и введении ОФР и ДР в ткани опухоли был выявлен барий (табл. 3). Причём его уровень в группе с сочетанным введением ОФР и ДР статистически значимо уменьшился на 55% по сравнению с контрольной группой и статистически значимо уменьшился на 52% по сравнению с группой введения только ОФР. Данных о наличии у бария мутагенных или канцерогенных свойств в литературе не встречалось, тем не менее его накопление отмечается, когда в питании преобладают продукты, подвергнутые какой либо обработке (консервирование, сушка, лиофилизация). В группе с сочетанным введением ОФР и ДР обнаружено статистически значимое увеличение уровня кремния на 31% по сравнению с контрольной группой животных.

Содержание микроэлементов в опухоли при различных способах воздействия

Элемент (г/500 мг ткани)	Контрольная группа (Ме, 25%÷75%)	Опухоль с введением ДР (Ме, 25%÷75%)	Опухоль с введением ОФР (Ме, 25%÷75%)	Опухоль с введением ОФР и ДР (Ме, 25%÷75%)	p
Al			5,00E-07 (4,54E-07÷5,81E-07)		
Ba	1,65E-08 (1,43E-08÷2,18E-08)		1,43E-08 (1,31E-08÷1,54E-08)	7,50E-09 Δ◇ (6,75E-09÷8,63E-09)	◇ - 0,02 Δ - 0,033
Cr		5,40E-08 (2,78E-08÷8,03E-08)	6,75E-08 (5,63E-08÷7,20E-08)	4,65E-08 (4,50E-08÷7,80E-08)	
Cu	8,78E-07 (7,70E-07÷1,02E-06)	9,55E-07 (8,75E-07÷1,09E-06)	9,39E-07 (8,17E-07÷1,00E-06)	8,37E-07 (7,68E-07÷9,97E-07)	
Fe	3,52E-06 (2,58E-06÷4,01E-06)	3,60E-06 (2,84E-06÷3,91E-06)	2,82E-06 (2,20E-06÷3,88E-06)	2,86E-06 (2,29E-06÷3,75E-06)	
Mn	2,40E-08 (2,25E-08÷3,60E-08)	2,46E-08 (2,10E-08÷2,91E-08)	2,49E-08 (1,94E-08÷2,70E-08)	2,16E-08 (1,64E-08÷2,69E-08)	
Ni	4,95E-08 (4,95E-08÷6,53E-08)				
Si	1,42E-05 (1,17E-05÷1,62E-05)	1,64E-05 (1,43E-05÷1,97E-05)	1,63E-05 (1,47E-05÷1,72E-05)	1,86E-05 Δ (1,71E-05÷1,99E-05)	Δ - 0,012
Zn	1,24E-06 (1,12E-06÷1,49E-06)	1,24E-06 (8,76E-07÷1,64E-06)	1,25E-06 (1,09E-06÷1,50E-06)	1,41E-06 (1,15E-06÷1,56E-06)	

◇ - статистически значимые различия между группой с введением ОФР и группой с введением ОФР и ДР в опухолевой ткани ($p \leq 0,05$)

Δ - статистически значимые различия по сравнению с контрольной группой в опухолевой ткани ($p \leq 0,05$)

В ткани печени у животных-опухоленосителей из контрольной группы содержание эссенциальных элементов Cu, Fe, Mn было статистически значимо ниже, чем у интактных животных. Уровень меди статистически значимо ($p=0,0022$) снижался на 19%. Медь, как металл переменной валентности, способствует усилению ПОЛ, что проявляется развитием иммунодефицита и возрастанием частоты спонтанного опухолеобразования (Massie H.R. et al., 1995). Уровень марганца у опухоленосителей контрольной группы снижался на 56% ($p=0,00021$) по сравнению с группой интактных животных. Марганец является одним из наиболее важных, жизненно необходимых микроэлементов. При снижении уровня

марганца снижается уровень важнейшего цитозольного антиоксидантного фермента – Mn-SOD, обеспечивающего инактивацию супероксид-аниона. Печень является одним из основным мест депонирования железа. В контрольной группе опухоленосителей уровень железа снижался на 67% ($p=0,000018$) по сравнению с интактными крысами. Железо – важнейший эссенциальный МЭ. Ионы Fe^{2+} являются индукторами ПОЛ (Bilmond P., 1984). Имеются сообщения о роли железа в индукции разрывов ДНК, мутагенезе и канцерогенезе (Metals in Carcinogenesis, 1990).

Таблица 4

Содержание Cr, Cu, Si, Zn в сердце интактных крыс, опухоленосителей и экспериментальных группах

Элемент (г/500 мг)	Интактные животные (Me, 25%÷75%)	Контрольная группа (Me, 25%÷75%)	Опухолоносители с введением ДР (Me, 25%÷75%)	Опухолоносители с введением ОФР (Me, 25%÷75%)	Опухолоносители с введением ОФР и ДР (Me, 25%÷75%)	p
Cr	5,40E-08 (5,10E-08÷6,15E-08)	6,83E-08 (5,74E-08÷8,10E-08)	9,00E-08 *Δ (7,73E-08÷1,09E-07)	8,18E-08 * (7,43E-08÷1,02E-07)	7,50E-08 * (6,71E-08÷8,21E-08)	*ДР - 0,001 ΔДР - 0,015 *ОФР - 0,015 *ОФР и ДР - 0,015
Cu	1,72E-06 (1,55E-06÷2,09E-06)	2,10E-06 (1,58E-06÷2,69E-06)	2,46E-06 * (2,08E-06÷3,13E-06)	2,43E-06 * (1,85E-06÷2,84E-06)	2,50E-06 * (1,98E-06÷2,91E-06)	*ДР - 0,0021 *ОФР - 0,015 *ОФР и ДР - 0,0054
Si	6,06E-06 (4,83E-06÷1,21E-05)	1,43E-05 (6,10E-06÷1,96E-05)	2,01E-05 * (1,29E-05÷3,15E-05)	2,49E-05* (1,32E-05÷3,52E-05)	2,47E-05 * (1,64E-05÷3,34E-05)	*ДР - 0,016 *ОФР - 0,024 *ОФР и ДР - 0,0077
Zn	5,98E-06 (5,42E-06÷7,51E-06)	7,28E-06 (6,32E-06÷1,01E-05)	8,52E-06 * (7,09E-06÷1,06E-05)	8,00E-06 (6,13E-06÷9,94E-06)	9,06E-06 * (7,30E-06÷1,01E-05)	*ДР - 0,002 *ОФР и ДР - 0,00001

*- статистически значимые различия по сравнению с интактной группой ($p \leq 0,05$)

Δ - статистически значимые различия по сравнению с опухоленосителями контрольной группы ($p \leq 0,05$)

В гомогенате почечной ткани опухоленосителей контрольной группы имело место статистически значимое ($p=0,00018$) увеличение содержания меди по сравнению со здоровыми животными на 43%. Статистически значимое ($p=0,022$) повышение уровня цинка у животных-опухоленосителей контрольной группы на 10% по сравнению с интактной группой свидетельствует о разбалансировке гомеостаза цинка в организме на фоне развития злокачественного новообразования.

Исследование микроэлементного состава ткани *сердца* показало статистически значимые различия уровней хрома, меди, кремния, цинка (табл. 4). При развитии опухолевого процесса отмечалось увеличение количества хрома в сердце животных-опухоленосителей. Наибольшее количество хрома зарегистрировано у опухоленосителей с введением ДР, его содержание в сердце данной группы животных статистически значимо повышено на 67% по сравнению с интактной группой и на 32% по сравнению с опухоленосителями (табл. 4). В экспериментальных группах с различными способами воздействия на опухолевую ткань обнаружено статистически значимое повышение уровня меди по сравнению со здоровыми животными. При сочетанном введении ОФР и ДР повышение содержания меди составило 45% по сравнению с интактной группой, введение только лишь ОФР сопровождалось повышением содержания меди на 41%, а использование ДР как противоопухолевого агента увеличило содержание меди на 43% (табл.4).

Значительное повышение уровня кремния было отмечено во всех экспериментальных группах опухоленосителей (табл.4). В литературе имеются отдельные сообщения, свидетельствующие о нарушении обмена кремния при развитии злокачественных опухолей (Воронков и др., 1978). Содержание цинка, как и остальных микроэлементов увеличилось по сравнению с интактной группой. Статистически значимое повышение отмечено в группе с введением ДР - на 42% по сравнению с интактной группой, в группе с введением ОФР и ДР – на 52% по сравнению с интактной группой (табл. 4).

При анализе распределения микроэлементов в *ткани лёгкого* только у интактных животных был обнаружен никель, который относится к условно-эссенциальным элементам по жизненной необходимости и к иммунотоксическим по критерию иммуномодулирующего эффекта. Лёгкое – единственная ткань, которая накапливает никель с возрастом (Nielsen, 1987). В гомогенате лёгочной ткани животных-опухоленосителей контрольной группы наблюдалось статистически значимое увеличение по сравнению с интактной группой и Cu на 36% ($p=0,0014$). Во всех исследуемых группах животных имело место статистически значимое накопление кремния. У животных-опухоленосителей с введением ОФР уровень железа статистически значимо ($p=0,014$) уменьшился на 34% по сравнению с интактной группой. Содержание железа в группе опухоленосителей с введением ОФР и ДР статистически значимо не отличалось от уровня интактных животных, однако обнаружено статистически значимое ($p=0,0003$) увеличение количество железа на 18% по сравнению с опухоленосителями с введением ОФР. Содержание железа в группе опухоленосителей с введением ОФР и ДР статистически значимо не отличалось от уровня интактных животных, однако обнаружено статистически

значимое ($p=0,0003$) увеличение количество железа на 18% по сравнению с опухоленосителями с введением ОФР .

В мозге крыс - опухоленосителей контрольной группы обнаружено статистически значимое накопление меди и цинка по сравнению с интактными животными, на 31% ($p=0,0041$) для меди и 23% ($p=0,025$) для цинка. Только в мозге интактных крыс был обнаружен никель. Имеются сведения, что в лёгких, поджелудочной железе, надпочечниках, мозге, зубах, костях, почках, сердце, аорте и коже наблюдается тенденция к обнаружению более высоких концентраций, в то время как в кишечнике, яичниках, крови и мышцах обнаружены небольшие количества (Sunderman, 1980). Как и в лёгочной ткани наблюдается накопление кремния. В группе животных-опухоленосителей с введением ОФР количество кремния статистически значимо ($p=0,0017$) увеличилось на 20%, а в группе опухоленосителей с сочетанным введением ОФР и ДР на 45% ($p=0,009$) по сравнению с интактной группой. Исследование содержания цинка показало статистически значимое накопление его у животных с введением только ОФР и группе с сочетанным введением ОФР и ДР по сравнению с интактной группой. Содержание меди в гомогенате мозга всех экспериментальных групп животных показало статистически значимое увеличение по сравнению с интактной группой. Наибольшее увеличение отмечено для опухоленосителей с введением ОФР и ДР, на 33% ($p=0,0026$) по сравнению со здоровыми животными

Исследование свободнорадикального окисления у интактных животных, крыс-опухоленосителей и экспериментальных группах

Одним из механизмов изменения уровней микроэлементов в тканях и в плазме крови может быть нарушение клеточных мембран под влиянием ПОЛ и выход из клеток микроэлементов. Кроме того, ряд микроэлементов могут участвовать в свободнорадикальном окислении как активаторы (металлы переменной валентности: Fe, Cu, Zn) или участвовать в антиоксидантном ответе (церулоплазмин, СОД).

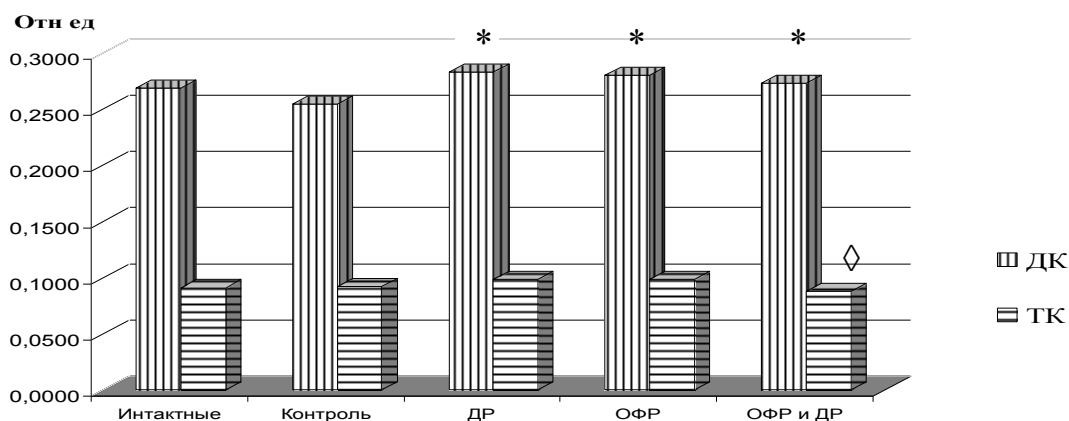


Рис. 1. Содержание диеновых конъюгатов и триеновых конъюгатов в плазме крови интактных животных и животных-опухоленосителей

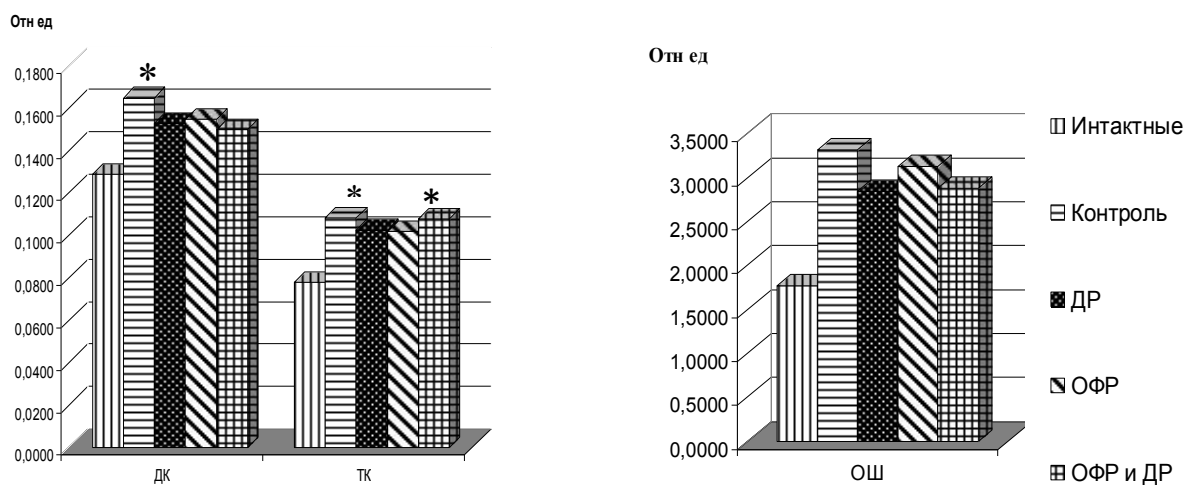
* – статистически значимые различия по сравнению с контрольной группой животных ($p \leq 0,05$)

◇ - статистически значимые различия между опухоленосителями с введением ОФР и опухоленосителями с введением ОФР и ДР ($p \leq 0,05$)

При исследовании продуктов ПОЛ в *плазме крови* интактных животных и плазме крови животных-опухоленосителей показано, что уровни первичных и конечных продуктов ПОЛ животных-опухоленосителей значимо не отличались от таковых у интактных животных (рис. 1). В экспериментальных группах по сравнению с контрольной отмечено статистически значимое повышение ДК (рис. 1). У животных-опухоленосителей с введением ОФР+ДР отмечено статистически значимое ($p=0,0026$) снижение количества ТК по сравнению с опухоленосителями с введением ОФР на 10% (рис. 1).

При расчёте корреляционных связей между показателями микроэлементов в *плазме крови* и показателями свободнорадикального окисления у животных опухоленосителей контрольной группы выявлена обратная корреляция между уровнем Ва и I_{max} ($R= - 0,7819$, $p=0,0378$), Ва и $tg(-2\alpha)$ ($R= -0,8546$, $p=0,0143$). В литературе не встречается упоминаний о канцерогенных, мутагенных свойствах бария или его влияние на антиоксидантную систему организма. Обнаружена связь между уровнем Си и ОШ ($R= - 0,6573$, $p=0,0202$). Медь входит в состав церулоплазмينا и Cu,Zn-супероксиддисмутазы– белков, обеспечивающих защиту организма от свободно-радикальных продуктов ПОЛ. Дефицит меди вызывает усиление ПОЛ и повышение уровня ОШ. Отрицательная корреляционная зависимость выявлена между уровнем Mn и I_{max} ($R= -0,8729$, $p=0,0103$), Mn и $tg(-2\alpha)$ ($R= - 0,9274$, $p=0,0026$). Марганец входит в состав одной из изоформсупероксиддисмутазы-фермента, обеспечивающего инактивацию супероксид-аниона. Увеличение уровня марганца свидетельствует о снижении свободно-радикальных процессов в организме.

Печень является важнейшим органом детоксикации, обеспечивающим дезактивацию продуктов свободно-радикального окисления.



а)

б)

Рис. 2. Содержание диеновых конъюгатов и триеновых конъюгатов (а), оснований Шиффа (б) в печени интактных животных и животных-опухоленосителей

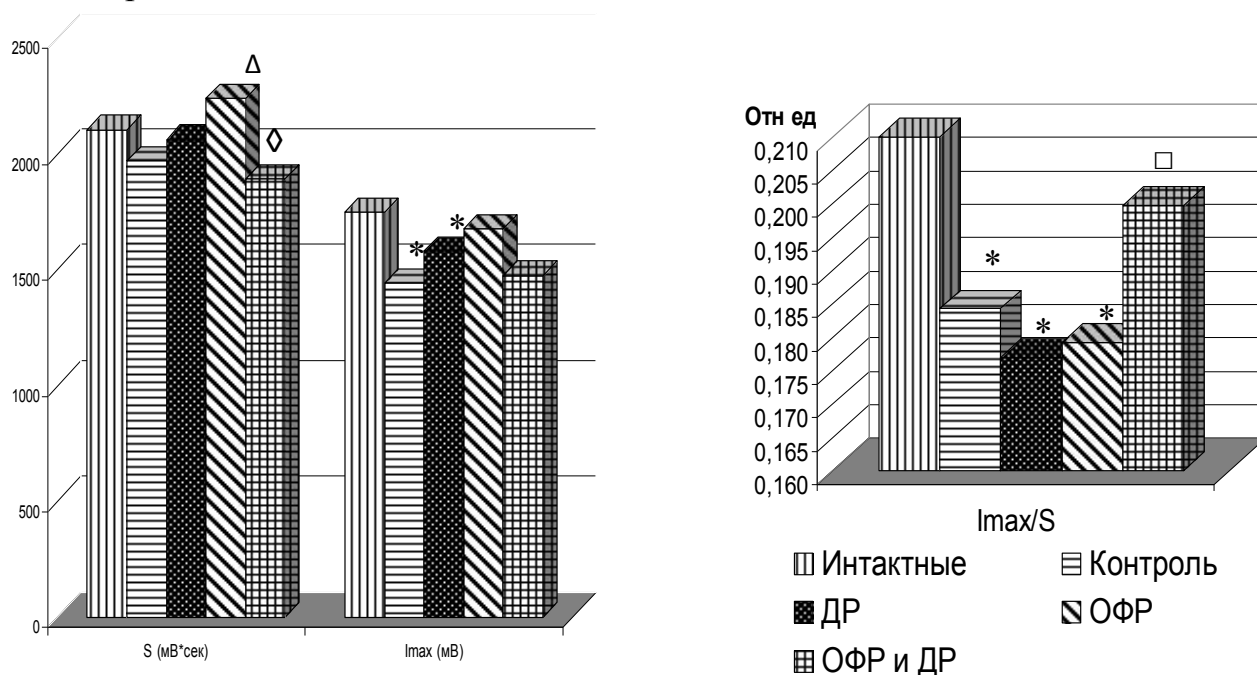
* – статистически значимые различия по сравнению с интактной группой животных ($p \leq 0,05$)

При анализе первичных и конечных продуктов ПОЛ в гомогенате ткани печени у интактных животных и опухоленосителей была выявлена только

тенденция к накоплению конечных продуктов ПОЛ – оснований Шиффа, являющихся токсичными для организма.

Изменение уровней первичных продуктов ПОЛ, ДК и ТК в контрольной группе животных было статистически значимо по сравнению с интактными (рис. 2). В группе животных-опухоленосителей содержание ДК статистически значимо ($p=0,0118$) повышалось на 28%. Статистически значимо ($p=0,033$) увеличивался уровень ТК в печени животных контрольной группы с 0,078 ед. опт. пл интактных крыс, до 0,108 ед. опт. пл у животных-опухоленосителей. Содержание ТК у опухоленосителей с введением ОФР и ДР - 0,107 ед. опт. пл статистически значимо ($p=0,02$) увеличилось на 37% по сравнению с интактной группой. ДК и ТК, являясь первичными молекулярными продуктами, отражают раннюю стадию окисления и в последующем могут переходить в токсические продукты – ОШ.

Исследование индуцированной хемилюминесценции (рис. 3а) показало статистически значимое ($p=0,028$) снижение уровня параметра I_{max} в гомогенате печени опухоленосителей по сравнению с интактной, с 1747 мВ до 1440 мВ (рис. 3а), что указывает на снижение активности ПОЛ. Помимо параметров S и I_{max} учитывался коэффициент I_{max}/S , характеризующий степень антиоксидантной защиты (Конторщикова, 2000). Статистически значимое ($p=0,0108$) уменьшение на 12% индекса I_{max}/S в контрольной группе 0,184 (0,161÷0,199) по сравнению с интактной группой 0,210 (0,199÷0,217) (рис. 3б) свидетельствовало о нарушении баланса про- и антиоксидантных систем в ткани печени.



а)

б)

Рис. 3. Показатели хемилюминограммы в гомогенате печени при различных воздействия. Показатель S в масштабе 1:4.

* – статистически значимые различия по сравнению с интактной группой животных ($p \leq 0,05$)

□ - статистически значимые различия между опухоленосителями с введением ДР и опухоленосителями с введением ОФР и ДР ($p \leq 0,05$)

◇ - статистически значимые различия между опухоленосителями с введением ОФР и опухоленосителями с введением ОФР и ДР ($p \leq 0,05$)

Если в гомогенате ткани *печени* опухоленосителей при введении ОФР отмечено статистически значимое ($p=0,02$) увеличение параметра S на 14% по сравнению с контрольной группой, то при введении ОФР и ДР показатель S снижался ($p=0,0101$) на 15% по сравнению с опухоленосителями после введения ОФР (рис. 3). У опухоленосителей с введением ДР статистически значимо ($p=0,0014$) на 10% по сравнению с интактной группой снизился показатель I_{max} (рис. 3). У животных-опухоленосителей с введением ДР и ОФР статистически значимо по сравнению с интактной группой снизился коэффициент I_{max}/S на 16% ($p=0,001$) и 15% ($p=0,002$), соответственно. На 13% (статистически значимо, $p=0,013$) увеличился коэффициент I_{max}/S в группе с введением ОФР и ДР по сравнению с опухоленосителями с введением ДР. Снижение S и увеличение I_{max}/S в печени говорит о снижении процессов свободнорадикального окисления и увеличении антиоксидантной активности.

В гомогенате ткани *почек* животных-опухоленосителей имело место повышение уровня ДК на 14% по сравнению с интактной группой (рис. 4а). На 51% ($p=0,025$) увеличивалось содержание конечных, токсических продуктов ПОЛ-ОШ в контрольной группе по сравнению с интактной группой (рис.4б), что указывало на увеличение активности ПОЛ.

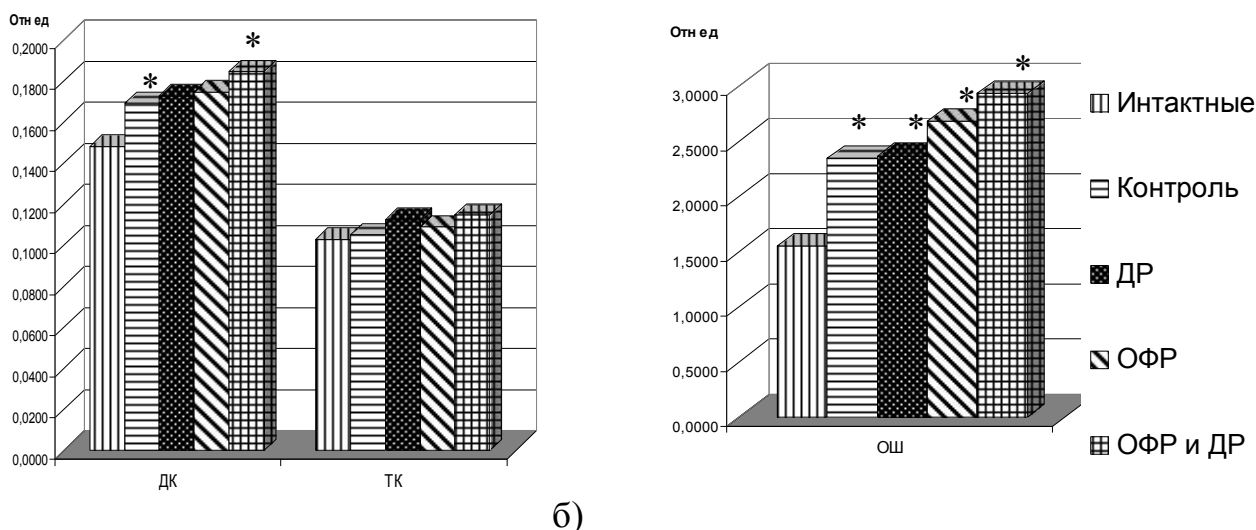


Рис. 4. Содержание диеновых конъюгатов и триеновых конъюгатов (а), оснований Шиффа (б) в почках интактных животных и животных-опухоленосителей

* – статистически значимые различия по сравнению с интактной группой животных ($p \leq 0,05$)

В группе животных-опухоленосителей с введением ОФР и ДР отмечено статистически значимое ($p=0,01$) накопление ДК по сравнению с интактной группой на 25% (рис. 4а). У крыс-опухоленосителей с введением ДР и ОФР отмечено статистически значимое повышение конечных продуктов липопероксидации – ОШ на 49% ($p=0,02$) и 73% ($p=0,01$), соответственно по сравнению с интактной группой (рис. 4б). В группе с сочетанным введением ОФР и ДР отмечено увеличение уровня ОШ на 89% ($p=0,023$). Показано статистически значимое ($p=0,02$) увеличение коэффициента I_{max}/S - 0,195 у опухоленосителей с

сочетанным введением ОФР и ДР на 15% по сравнению со здоровыми животными 0,188.

В ткани *сердца* животных-опухоленосителей отмечалось повышение уровня ДК на 17% по сравнению с интактной группой животных ($p=0,021$). У животных-опухоленосителей с введением ДР отмечено статистически значимое накопление ДК на 30% ($p=0,004$) и ТК на 37% ($p=0,023$) по сравнению с интактными животными. В группе с введением ОФР количество ДК статистически значимо ($p=0,008$) увеличилось на 18% по сравнению с интактными животными. В группе с введением ОФР и ДР количество ДК и ТК статистически значимо увеличилось на 17% ($p=0,01$) и 60% ($p=0,0069$) по сравнению с интактными животными. Противоположная картина наблюдалась с конечными продуктами ПОЛ-ОШ. В группах животных-опухоленосителей и опухоленосителей с введением ОФР количество ОШ статистически значимо снизилось на 38% ($p=0,05$) и 41% ($p=0,01$) по сравнению с группой здоровых животных. У животных-опухоленосителей с введением ОФР и ДР ОШ статистически значимо ($p=0,0089$) было больше, чем у опухоленосителей с введением ОФР на 136%. Исследование биохемилюминесценции не выявило статистически значимых различий в показателях между интактной группой и группой животных-опухоленосителей.

Содержание продуктов ПОЛ в *мозге* животных-опухоленосителей было выше, чем в интактной группе. Количество ДК статистически значимо ($p=0,024$) у животных-опухоленосителей превысило таковое значение у интактных животных на 13%. Измерение активности биохемилюминесценции не выявило отличий в отдельных группах.

При анализе ткани *лёгкого* достоверных изменений в параметрах про- и антиоксидантного баланса выявлено не было.

Анализ показателей хемилюминограмм гомогенатов ткани *опухоли* экспериментальных животных, (табл. 5), продемонстрировал статистически значимое повышение значений параметров I_{max} ($p=0,01$) и S ($p=0,01$), характеризующих интенсивность свободно-радикального окисления, и одновременно параметров $tg(-2\alpha)$ и коэффициента I_{max}/S , представляющих общую антиоксидантную активность. При этом показатели $tg(-2\alpha)$ и I_{max}/S гомогенатов ткани опухоли крыс с введением ОФР и ДР, занимали промежуточное положение между показателями у крыс с введением ДР и ОФР. Содержание ДК и ТК в гомогенате ткани опухоли (табл. 6) было статистически значимо более низкими у животных с введением ОФР ($p=0,02$) и ОФР и ДР ($p=0,01$) по сравнению с интактными животными. В то же время содержание конечных продуктов липопероксидации — ОШ, было статистически значимо выше только в опухолях животных с введением ОФР и ДР ($p=0,0012$). Статистически значимым ($p=0,023$) у животных этой группы по сравнению со всеми другими группами было увеличение коэффициента ОШ/ДК+ТК, который отражает направленность процесса липопероксидации в сторону преобладания в ткани опухоли жестких продуктов, которые разрушают клеточную мембрану и тем самым способствуют деструкции клеток опухоли.

Таблица 5

Показатели хемиллюминограммы гомогената ткани опухоли экспериментальных животных ($X \pm m$)

Группы животных	Показатели хемиллюминограммы			I _{max} /S
	I _{max} , мВ	S, мВ	tg(-2α)	
Опухоленосители	1029,5±11,2	4951±31,5	403,6±12,4	0,207±0,012
Опухоленосители с введением ДР	1744±13,1*	5878±39,1*	838,3±10,9*	0,2967±0,019*
Опухоленосители с введением ОФР	1709±15,2*	7993±41,4*	696,7±9,8*	0,2314±0,021*
Опухоленосители с введением ОФР и ДР	1589±13,2*	5864±36,6*	727,5±11,3*	0,2709±0,022*

* — различия статистически значимы по сравнению с контрольной группой животных ($p < 0,05$)

Таблица 6

Содержание продуктов липопероксидации в гомогенате ткани опухоли экспериментальных животных ($X \pm m$), отн. ед.

Группы животных	Продукты липопероксидации			ОШ/ДК+ТК
	ДК	ТК	ОШ	
Опухоленосители	0,098±0,005	0,081±0,001	1,34±0,12	7,44±0,81
Опухоленосители с введением ДР	0,100±0,006	0,098±0,003	1,52±0,2 0	7,67±0,63
Опухоленосители с введением ОФР	0,082±0,005*	0,067±0,002*	1,61±0,21	10,80±0,51*
Опухоленосители с введением ОФР и ДР	0,043±0,006*	0,074±0,003*	1,69±0,19*	14,40±0,72*

* — статистически значимые различия по сравнению с контрольной группой животных, ($p < 0,05$)

Изучение морфологической структуры опухолевой ткани при различных способах воздействия на неё

Изучение микроэлементного состава и биохимических показателей важно было дополнить исследованием морфологической структуры опухолевой ткани, чтобы наглядно продемонстрировать изменения метаболизма опухоли при различных способах воздействия.

У животных–опухоленосителей контрольной группы опухоль имела солидную структуру. Проявления спонтанного патоморфоза были минимальны. Изменения со стороны стромы и опухолевых клеток практически отсутствовали, носили спонтанный характер.

В опухолях животных с введением ДР патоморфоз характеризовался появлением мозаично расположенных, разного размера участков тотального некроза ткани новообразования. Частота встречаемости таких очагов была статистически достоверно выше, чем в опухолях животных, не подвергавшихся ни какому воздействию. При этом в сохранных участках часть клеток находилась в состоянии необратимых форм дистрофий и ядерных повреждений. Количество подобных клеток было значимо выше, чем у опухоленосителей контрольной группы (табл.7). Строма была отечна.

В экспериментальной группе с введением ОФР, тотальный некроз был представлен в виде одного–двух фокусов, располагающихся на периферии опухоли. Площадь очагов некроза была статистически значимо меньше, чем в опухолях, подвергшихся воздействию ДР. В сохранившихся зонах количество клеток с необратимыми повреждениями также оказалось статистически значимо меньше, чем в предыдущей группе, и не отличалось от показателей в группе, не подвергавшейся противоопухолевому лечению.

Таблица 7

Морфологические изменения в опухолях лабораторных животных в зависимости от вида воздействия

Группы животных	Морфологические изменения			
	Некрозы (%)	Дистрофии (%)	Митозы (%)	Сохранные опухолевые клетки (%)
Опухоленосители	1,96±0,31	25,71±5,79	2,0±0,23	72,28±5,78
Опухоленосители с введением ДР	41,75±5,30 [•]	44,80±2,87 [•]	2,81±0,23 [•]	34,43±5,58 ^{•,∇}
Опухоленосители с введением ОФР	8,46±3,68 [*]	22,60±3,32 [*]	2,47±0,27	69,0±4,24 [*]
Опухоленосители с введением ОФР и ДР	40,90±8,64 ^{•,∇}	49,0±8,18 ^{•,∇}	0,53±0,19 ^{•,∇,*}	9,40±2,20 ^{•,∇,*}

* – статистически значимые различия по сравнению с опухоленосителями с введением ДР($p \leq 0,05$)

• – статистически значимые различия по сравнению с интактными животными ($p \leq 0,05$)

∇ – статистически значимые различия по сравнению с опухоленосителями с введением ОФР($p \leq 0,05$)

Число клеток, находившихся в состоянии митоза, в данной группе не отличалось от их количества у опухоленосителей контрольной группы и опухоленосителей с введением ДР. Почти две трети опухолевых клеток не имели видимых повреждений (табл. 7).

У животных-опухоленосителей с введением ОФР и ДР было выявлено наличие мозаичных участков полной деструкции, общая площадь которых достоверно не отличалась от соответствующего показателя у животных с введением ДР и превосходила значения у опухоленосителей контрольной группы и опухоленосителей с введением ОФР. Имело место статистически значимое снижение числа митотически делящихся элементов и оставшихся жизнеспособными опухолевых клеток не только с опухоленосителями контрольной и опухоленосителями с введением ОФР, но и с опухоленосителями с введением ДР (табл. 7). Наблюдалась умеренно выраженная отечность стромы. Таким образом, сочетанное воздействие ОФР и ДР оказывало наиболее выраженное повреждающее воздействие на опухолевую ткань.

ВЫВОДЫ

1. Развитие неопластического процесса сопровождается изменением уровней микроэлементов в плазме крови и тканях (печень, почки, мозг, лёгкое, сердце) животных-опухоленосителей.
2. Цитостатик доксорубин вызывает дальнейшее нарушение баланса микроэлементов в тканях, не повреждённых опухолью. Введение озонированного физиологического раствора сопровождалось незначительной коррекцией баланса микроэлементов. Сочетанное введение озонированного физиологического раствора и доксорубина обеспечивает восстановление баланса микроэлементов в ткани печени, почек, и плазме крови.
3. У животных-опухоленосителей по сравнению со здоровыми животными имело место повышение уровня перекисного окисления липидов в плазме крови, печени, почках, мозге, лёгком, сердце. В плазме крови животных-опухоленосителей при сочетанном введении озонированного физиологического раствора и доксорубина показано снижение показателей первичных и конечных продуктов перекисного окисления липидов по сравнению с опухоленосителями контрольной и опухоленосителями с введением доксорубина.
4. Показано повышение общей антиоксидантной активности в гомогенате почек у опухоленосителей с введением озонированного физиологического раствора по сравнению с интактной группой. В печени опухоленосителей и опухоленосителей после введения доксорубина имеет место снижение свободнорадикального окисления и антиоксидантной активности по сравнению с интактной группой животных. Сочетанное введение озонированного физиологического раствора и доксорубина сопровождается увеличением антиоксидантной активности в печени по сравнению с раздельным воздействием озонированного физиологического раствора.

5. Согласно анализу морфологической структуры опухолевой ткани сочетанное введение озонированного физиологического раствора и доксорубицина оказывает наиболее выраженное повреждающее воздействие на опухолевую ткань.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Работы, опубликованные в ведущих рецензируемых научных журналах и в изданиях, определенных ВАК

1. Алясова А.В. Влияние низких терапевтических концентраций озонированного физиологического раствора на терапевтический патоморфоз опухоли в эксперименте / Алясова А.В., Конторщикова К.Н., Терентьев И.Г., Иванова И.П., Кузнецов С.С., **Сазанов А.И.** // Современные технологии в медицине, 2010, № 4, С. 27-32
2. Красникова О.В. Изменение параметров ИК спектров биологических тканей животных – опухоленосителей на фоне совместного введения доксорубицина и озона / Красникова О.В., Гордцов А.С., Конторщикова К.Н., Крылов В.Н., **Сазанов А.И.** // Современные технологии в медицине, 2011, № 3, С. 83-87
3. Красникова О.В. Изменение параметров ИК спектров плазмы крови животных-опухоленосителей на фоне комплексного введения доксорубицина и озона / Красникова О.В., Гордцов А.С., Конторщикова К.Н., Крылов В.Н., **Сазанов А.И.** // Вестник Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского.-2011, № 5(1), С.105-109

Статьи, доклады, тезисы докладов региональных и международных конференций

1. **Сазанов А.И.** Оценка концентраций меди, цинка и железа в тканях животных-опухоленосителей на фоне введения озона и доксорубицина / Сазанов А.И., Конторщикова К.Н., Пименов В.Г. // IX юбилейная научная сессия молодых учёных и студентов «Современное решение актуальных проблем в медицине», Нижний Новгород.-2010, С. 170-172
2. **Сазанов А.И.** Анализ концентраций меди, цинка и железа в тканях животных-опухоленосителей на фоне введения озона и доксорубицина / Конторщикова К.Н., Алясова А.В., Пименов В.Г., Евдокимов И.И. // Микроэлементы в медицине. Специальный выпуск. IV Международный симпозиум федерации европейских обществ по изучению макро- и микроэлементов «Макро- и микроэлементы в медицине и биологии» 9-12 июня 2010 г., Санкт-Петербург. Москва.- 2010, Том 11. Вып. 2., С. 54
3. **Сазанов А.И.** Исследование влияния озонированного физиологического раствора и доксорубицина на концентрации железа, меди и цинка в тканях животных-опухоленосителей / Конторщикова К.Н., Пименов В.Г. // 15-ая Нижегородская сессии молодых учёных. Нижний Новгород.- 2010, С. 23

4. **Сазанов А.И.** Влияние озонированного физиологического раствора и доксорубина на концентрации железа, меди, цинка в тканях животных-опухоленосителей / Конторщикова К.Н., Пименов В.Г. // III Всероссийский конгресс с международным участием студентов и аспирантов-биологов «Симбиоз-Россия 2010», г. Нижний Новгород.-2010, С. 148-149
5. Конторщикова К.Н. Сравнительный анализ действия озона и доксорубина на уровень микроэлементов в крови больных раком молочной железы и тканях животных-опухоленосителей / Конторщикова К.Н., Алясова А.В., **Сазанов А.И.**, Пименов В.Г., Евдокимов И.И. // Материалы V украинско-русской научно-практической конференции IV азиатско-европейской научно-практической конференции «Озон в биологии и медицине» Одесса.-2010, С. 17-18
6. Конторщикова К.Н. Изменение содержания некоторых микроэлементов у больных раком молочной железы и животных-опухоленосителей под влиянием химиотерапии и озонотерапии / Конторщикова К.Н., Алясова А.В., **Сазанов А.И.**, Пименов В.Г. // Российский биотерапевтический журнал. 2010, № 2, том 9, С.63
7. **Сазанов А.И.** Анализ концентрации микроэлементов и продуктов перекисного окисления липидов в тканях животных-опухоленосителей на фоне введения озона и доксорубина / Сазанов А.И., Конторщикова К.Н. // Медицинский альманах. Сборник материалов X-ой научной сессии молодых учёных и студентов. Нижний Новгород.- 2011, С.135-136
8. Kontorshchikova C.N. Comparative analysis of the effect of small doses of ozone and doxorubicin on the therapeutic pathomorphism of an experimental tumor / C.N. Kontorshchikova, A.V. Alyasova, B.E. Shakhov, I.G. Terentiev, S.N. Tzybusov, S.N. Kuznetsov, **A.I. Sazanov** // 20th IOA World Congress – 6th IUVA World Congress: Ozone and UV Leading-edge science and technologies, Paris, 2011, P.V.1.6-1-9
9. Обухова Л.М. Морфологический анализ плазмы крови крыс при экспериментальном канцерогенезе и комбинированной терапии озоном и доксорубином / Л.М. Обухова, А.В. Алясова, К.Н. Конторщикова, **А.И. Сазанов**, Т.Н. Горшкова, О.Н. Никифорова // Вестник физиотерапии и курортологии. Материалы VI Украинско-Русской научно-практической конференции V Азиатско-Европейской научно-практической конференции «Озон в биологии и медицине» Одесса, 2012, № 5, С.26-27

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ДК – диеновые конъюгаты

ДР - доксорубицин

МЭ - микроэлементы

ОФР – озонированный физиологический раствор

ОШ – основания Шиффа

ПОЛ – перекисное окисление липидов

СОД - супероксиддисмутаза

СРО – свободнорадикальное окисление

ТК – триеновые конъюгаты